N° d'ordre : 384

THÈSE

PRÉSENTÉE

A L'UNIVERSITÉ DE BORDEAUX I

POUR OBTENIR LE GRADE DE

DOCTEUR ÈS - SCIENCES PHYSIQUES

PAR

Quitrie VRIGNAULT

Contribution à l'étude spectrale des colorants dérivés de l'acridine et du xanthène. Identification de l'émission de différentes formes ioniques et polarisation de la phosphorescence dans le plexiglass.

Soutenue le 13 décembre 1972, devant la Commission d'Examen :

MM. J. JOUSSOT-DUBIEN, Professeur ..... *Président*

A. ROUSSET, Professeur, Membre correspondant de l'Institut .....
J. RUAMPS, Professeur .....
M^lle^ E. LAFFITTE, Professeur .....
M. G. NOUCHI, Maître de Recherche au C.N.R.S. .. } *Examinateurs*

— 1972 —

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41547315_0018

N° d'ordre : 384

THÈSE

PRÉSENTÉE

A L'UNIVERSITÉ DE BORDEAUX I

POUR OBTENIR LE GRADE DE

DOCTEUR ÈS - SCIENCES PHYSIQUES

PAR

Quitrie VRIGNAULT

Contribution à l'étude spectrale des colorants dérivés de l'acridine et du xanthène. Identification de l'émission de différentes formes ioniques et polarisation de la phosphorescence dans le plexiglass.

Soutenue le 13 décembre 1972, devant la Commission d'Examen :

MM. J. JOUSSOT-DUBIEN, Professeur ..... *Président*

A. ROUSSET, Professeur, Membre correspondant de l'Institut .....
J. RUAMPS, Professeur .....
M^lle E. LAFFITTE, Professeur .....
M. G. NOUCHI, Maître de Recherche au C.N.R.S. .. } *Examinateurs*

— 1972 —

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

A Mademoiselle E. LAFFITTE

A ma mère

A mon mari

AVANT-PROPOS

Cette étude a été conduite sous la direction de Mademoiselle le Professeur LAFFITTE qui m'a initiée à la polarisation et fait découvrir le plaisir de travailler dans la beauté et le chatoiement des couleurs... J'ai toujours trouvé auprès d'elle accueil et disponibilité, elle n'a pas hésité à me prodiguer abondamment encouragements et conseils. Qu'elle veuille bien trouver ici l'expression de ma profonde reconnaissance.

A Monsieur le Professeur JOUSSOT-DUBIEN, qui a accepté de présider ce jury et dont les suggestions m'ont été précieuses pour la rédaction de ce mémoire, il m'est agréable d'exprimer ma gratitude.

Monsieur le Professeur ROUSSET, Membre correspondant de l'Académie des Sciences, a bien voulu m'accueillir dans son laboratoire et suivre les premières étapes de ce travail me faisant partager son amour de la Recherche. Je lui adresse tous mes remerciements.

Je remercie Monsieur le Professeur RUAMPS d'avoir accepté, si aimablement, de juger ce travail.

Je tiens à exprimer mes pensées reconnaissantes à Monsieur NOUCHI, Directeur du laboratoire, et à Monsieur le Professeur LOCHET qui a mis à ma disposition sa technique d'"échantillons solides".

A tous les membres du laboratoire vont mes remerciements pour leur amicale collaboration. En particulier, je n'oublierai pas Monsieur DUPUY qui a bien voulu s'intéresser aux colorants et Mademoiselle DUBROCA qui m'a consacré de longs moments en de fructueuses discussions.

SOMMAIRE

CHAPITRE I : Introduction ..... p. 1

CHAPITRE II : Appareils, montages et techniques

Appareils commerciaux 11

Montage du laboratoire 13

Etude des clichés 16

Obtention des échantillons 17

Cryostats 21

CHAPITRE III : Etude spectrale de l'absorption et de l'émission pour une excitation par la première bande $S \rightarrow S^*$

- Orangé d'acridine
  - Revue bibliographique 27
  - Absorption 30
  - Fluorescence 38
  - Phosphorescence 46
- Proflavine 53
- Trypaflavine et Jaune d'acridine 73

Résumé des colorants de l'acridine 87

- Rhodamine B
  - Revue bibliographique 91
  - Absorption 93
  - Fluorescence 97
  - Emission retardée 101
- Fluorescéine 105
- Eosine 115

Résumé des colorants du xanthène 120

CHAPITRE IV : Polarisation des émissions pour une excitation par la première bande $S \rightarrow S^*$

A - Colorants de l'acridine

Phosphorescence ..... p. 125

Fluorescence 131

Fluorescence lente 134

B - Colorants du xanthène

Phosphorescence 137

Fluorescence 139

Fluorescence lente 139

C - Conclusion 144

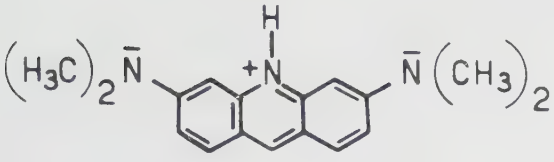
CHAPITRE V : Excitation par la bande $S \rightarrow T$ 151

- Rhodamine B, Pyronine B 152
- Fluorescéine 156

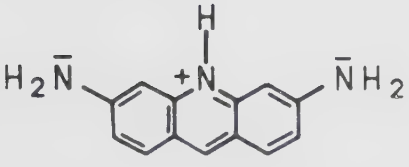
RESUME 159

TABLEAU I

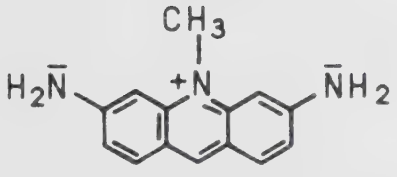
Colorants de l'ACRIDINE



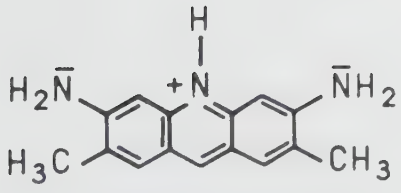
ORANGÉ D'ACRIDINE



PROFLAVINE

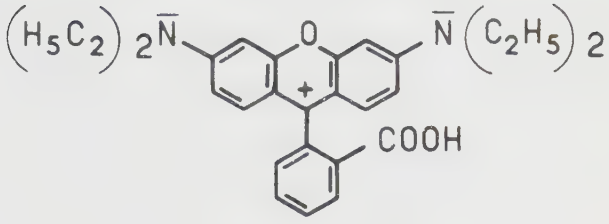


TRYPAFLAVINE

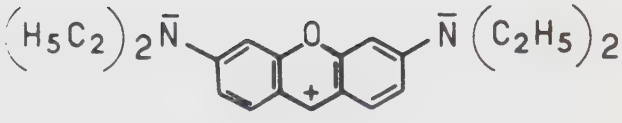


JAUNE D'ACRIDINE

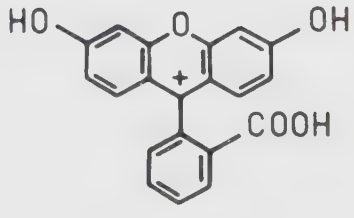
Colorants du XANTHENE



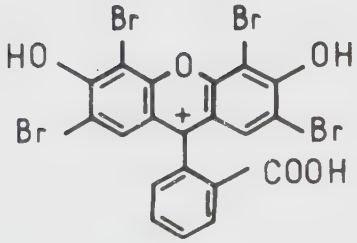
RHODAMINE B



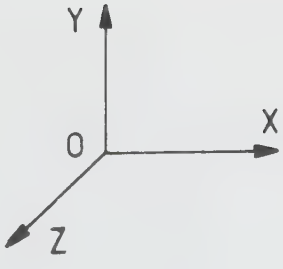
PYRONINE B



FLUORESCEINE



EOSINE



CHAPITRE I

INTRODUCTION

Dans la ligne des recherches du laboratoire d'OPTIQUE MOLECULAIRE, Monsieur le Professeur ROUSSET, alors directeur du laboratoire, nous avait proposé d'étudier la polarisation de la luminescence de certains colorants. Il s'agissait de molécules appartenant aux groupes de l'acridine (orangé d'acridine, jaune d'acridine, trypaflavine) et du xanthène (rhodamine B, fluorescéine, éosine). Bien que ces colorants aient trouvé un champ d'application dans la fabrication des lasers, l'émission des différentes formes ioniques ou moléculaire est mal connue. La présence du squelette rigide de l'anthracène, d'hétéroatomes d'azote pour le groupe de l'acridine ou d'oxygène et d'azote pour le groupe du xanthène devait nous permettre de relier notre étude aux hydrocarbures aromatiques et aux molécules voisines. Nous nous sommes surtout intéressé aux solutions acides, où l'on trouve principalement des monocations. Leurs formules ont été rassemblées dans le tableau I.

Selon plusieurs méthodes théoriques (Modèle Métallique, méthode de Hückel. . .) on attribue aux transitions entre états singulet un oscillateur linéaire. Dans les colorants étudiés, cet oscillateur est dirigé suivant l'axe OX , grand axe de la molécule, pour la transition électronique $S \rightarrow S^*$ portant les molécules de l'état singulet S de plus basse énergie au premier état singulet excité S^* (figure I-1) (conformément à l'usage nous dirons que le moment de transition est dirigé

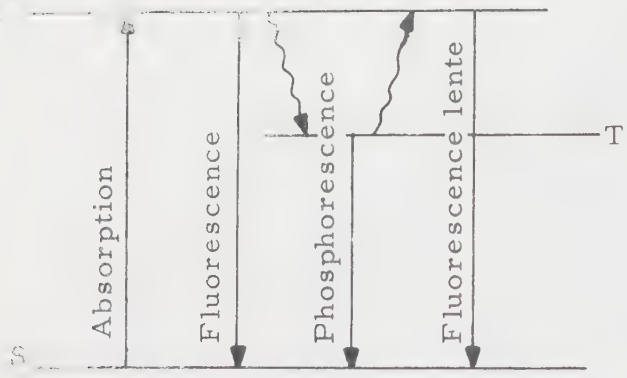


Figure I-1

suivant OX). Cette transition correspond à la bande d'absorption de plus grande longueur d'onde. Elle se trouve dans le visible et nous l'appellerons première bande d'absorption.

La fluorescence correspond à la transition électronique inverse. Cette même transition peut se produire après passage de la molécule à l'état T , premier niveau triplet, d'énergie inférieure à celle de l'état S^* , suivi d'une conversion intersystème non radiative $T \rightsquigarrow S^*$. Nous l'appelons fluorescence lente, conformément à la notation de LEACH (1).

La phosphorescence correspond à la transition radiative $T \rightarrow S$, donc à une bande d'émission décalée vers les grandes longueurs d'onde par rapport à la fluorescence.

Fluorescence et phosphorescence constituent la luminescence, émission partiellement polarisée. Plaçons-nous dans le cas d'une lumière incidente polarisée rectilignement se propageant suivant xo , le vecteur électrique excitateur étant parallèle à oz (figure I-2). La solution luminescente supposée homogène et isotrope se trouve au voisinage de o . Dans ces conditions l'état de polarisation observable est le même pour toute direction d'émission du plan xoy. Nous observons dans la direc-

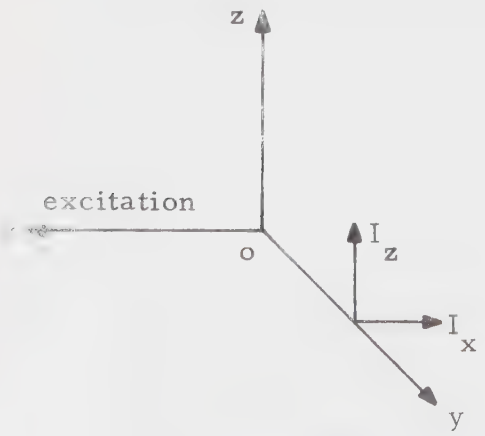


Figure I-2

tion oy , perpendiculaire à la fois à la direction d'excitation et au vecteur lumineux excitateur.

Si I_z et I_x sont les intensités des vibrations parallèles à oz et ox dans la lumière émise, l'état de polarisation peut être caractérisé, soit par le facteur de dépolarisation $\rho = \frac{I_x}{I_z}$, soit par le taux de polarisation $p = \frac{I_z - I_x}{I_z + I_x} = \frac{1-\rho}{1+\rho}$. En luminescence, il est d'usage de considérer plutôt le coefficient p .

La <u>fluorescence</u> des colorants a été étudiée depuis longtemps du point de vue polarisation. Une étape importante a été marquée par la thèse de F. PERRIN (2) dont la formule, devenue classique, traduit l'influence de l'agitation thermique.

$$\frac{1}{p} = \frac{1}{p_o} + \left(\frac{1}{p_o} - \frac{1}{3}\right) \frac{RT\tau}{V\eta}$$

p est le taux de polarisation dans les conditions expérimentales que nous venons de préciser ; R , la constante des gaz parfaits ; T , la températeure absolue ; τ , la vie moyenne effective de la molécule à l'état fluorescent ; V , le volume moléculaire du soluté ; η , la viscosité du solvant.

La valeur p_o , limite de p pour une viscosité infinie, est une grandeur moléculaire, liée aux oscillateurs d'émission et d'absorption. F. PERRIN la déterminait <u>par extrapolation à une viscosité infinie</u> de mesures de p pour des viscosités croissantes du solvant, en opérant avec des solutions suffisamment diluées. En effet, aux concentrations importantes, une dépolarisation par concentration s'ajoute à la

dépolarisation due au mouvement brownien. La polarisation fondamentale p_o est en somme le taux de polarisation en l'absence de tout facteur perturbant.

Dans l'hypothèse d'oscillateurs linéaires d'émission et d'absorption faisant entre eux un angle α, J. PERRIN (3) a établi que :

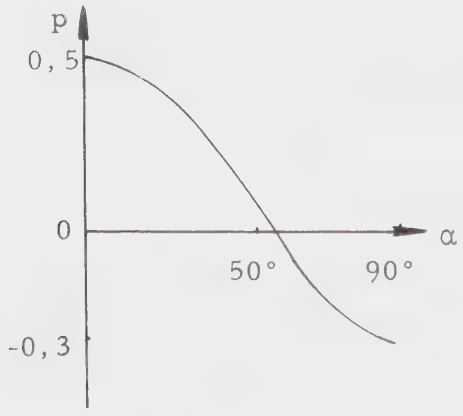


Figure I-3

$$p_o = \frac{3\cos^2\alpha - 1}{\cos^2\alpha + 3}$$

formule qui montre que p_o varie de 0,5 pour des oscillateurs d'absorption et d'émission parallèles à -0,33 pour des oscillateurs perpendiculaires (figure I-3).

Pour une excitation par la première bande d'absorption, les oscillateurs d'absorption et de fluorescence sont identiques et la valeur théorique de p_o est 0,5. F. PERRIN a effectivement trouvé des valeurs voisines de 0,5 par sa méthode d'extrapolation.

Dans le cas des colorants des groupes de l'acridine et du thène, l'application du Modèle Métallique qui fait prévoir pour la transition 1 (figure I-4) un oscillateur suivant OX entraîne un oscillateur faisant un angle important avec pour les transitions 2 et 3, et un oscillateur se rapprochant de OX pour la transition 4 (4). La fluorescence correspondant toujours à l'inverse de la transition 1, on explique les courbes expérimentales très anciennes de variation du taux de polarisation avec la longueur d'onde

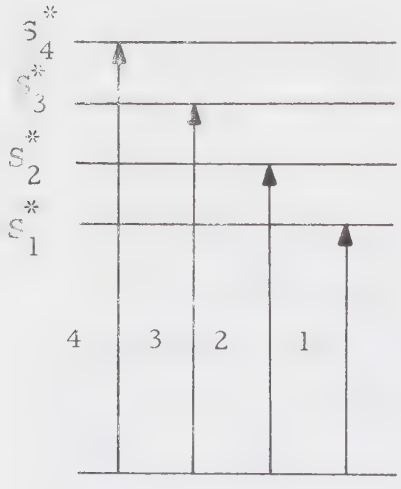


Figure I-4

excitatrice, courbes comportant un minimum négatif pour une excitation ultraviolette (5).

Une technique introduite avant notre arrivée au laboratoire (6) avait permis l'obtension de p_o par une seule mesure, en incorporant le colorant dans le plexiglass, solvant acide rigide dès la température ordinaire. Cette mesure unique donnait des valeurs comparables et même supérieures aux valeurs extrapolées de F. PERRIN. Cette technique a été le point de départ d'une série de travaux sur la fluorescence des colorants "en solution solide dans le plexiglass". Rappelons-en brièvement les résultats essentiels, en précisant que l'usage du plexiglass, qui absorbe fortement dans l'ultraviolet, limite l'étude de la luminescence à une excitation par la bande visible d'absorption :

- p_o n'est pas constant le long du spectre de fluorescence mais diminue quand on se déplace vers les grandes longueurs d'onde (7).

- p_o augmente avec la longueur d'onde excitatrice, même lorsque celle-ci reste comprise dans la première bande d'absorption (7)

- p_o diminue quand la concentration augmente (7, 8) bien que cet effet soit moins marqué dans le plexiglass que dans d'autres solvants La dépolarisation par concentration disparaît si l'on absorbe au moyen d'un colorant supplémentaire convenablement choisi les plus courtes longueurs d'onde de la fluorescence (8).

Les valeurs maximales, mesurées pratiquement égales à 0, 5, avaient confirmé l'hypothèse de l'oscillateur rectiligne.

Le but de notre travail était l'étude de la polarisation de la phosphorescence et accessoirement de la fluorescence lente. Habituellement, on observe la fluorescence lente à la température ordinaire où l'activation thermique entraîne la transition $T \rightsquigarrow S^*$ tandis que l'observation de la phosphorescence nécessite en principe le refroidissement des colorants pour supprimer toutes les causes de dépeuplement de l'état triplet : fluorescence lente, conversion $T \rightsquigarrow S$ non radiative... Dans nos solvants (plexiglass suivant la technique signalée ou méthacrylate de méthyle polymérisé) la phosphorescence apparaît dès la température ambiante avec une intensité comparable à celle de la fluorescence. Il sera donc difficile d'étudier les plus grandes longueurs d'onde de la fluorescence qui seront recouvertes par les plus courtes longueurs d'onde de la phosphorescence. Seule la phosphorescence sera étudiée à l'état pur en enregistrant l'émission retardée à basse température.

La polarisation de la phosphorescence des colorants a été relativement peu étudiée. Des mesures anciennes effectuées sans spectrographe, donc englobant la totalité de l'émission, signalaient qu'elle était dépolarisée ou polarisée négativement (9). Quelques mesures récentes ont mis en évidence une variation du taux de polarisation le long du spectre d'émission (10).

Depuis une dizaine d'années, la polarisation de la phosphorescence a été étudiée sur de nombreux hydrocarbures aromatiques, hétérocycles avec ou sans substituants aminés (11). On a montré pour ces molécules que le couplage spin-orbite introduit dans l'état triplet T des états singulets perturbateurs et dans l'état fondamental S des états triplets perturbateurs, de sorte que l'on aurait des transitions entre les états singulets perturbant T et l'état S et aussi entre l'état T et les états triplets perturbant S .

Le moyen habituel de peupler l'état T est d'éclairer par la première bande $S \rightarrow S^*$, les molécules passant ensuite de l'état S^* à l'état T par conversion intersystème. A ce moyen classique, nous avons ajouté l'éclairement par la bande $S \rightarrow T$. L'état T ainsi atteint, la phosphorescence devient une émission directe. Si la répartition spectrale est comparable avec les deux excitations, nous verrons que le taux de polarisation est différent, ce qui est normal puisque les oscillateurs d'absorption ne sont pas les mêmes. La durée de vie est également changée.

Nos mesures du taux de polarisation ont toujours été faites parallèlement à l'étude spectrale correspondante. En effet, nous avions tout d'abord étudié le spectre de phosphorescence et la variation du taux de polarisation le long de ce spectre. Cette étude nous avait suggéré l'existence de deux centres luminescents, soit deux formes ioniques soit monomère et associat. Pour préciser le bien-fondé de ces hypothèses, nous avons été amené à étudier les spectres d'absorption et d'émission en fonction de la température, de la concentration et parfois de l'acidité du solvant. Cette étude constitue finalement une partie très importante du travail que nous exposons ici.

Dans le chapitre II nous indiquons les appareils commerciaux utilisés, nous décrivons les montages conçus et réalisés au laboratoire ainsi que l'étude de nos clichés. Nous exposons enfin la technique des solutions solides.

Dans les chapitres III, IV et V on trouvera l'exposé de nos résultats. Etude spectrale détaillée au chapitre III, l'excitation de l'émission étant obtenue par la première bande $S \rightarrow S^*$; mesure du taux de polarisation au chapitre IV, dans les mêmes conditions d'excitation. Dans le chapitre V, nous étudions l'émission pour une excitation $S \rightarrow T$ tant du point de vue spectral que du point de vue polarisation.

BIBLIOGRAPHIE DU CHAPITRE I

1 - S. LEACH et E. MIGIRDICYAN. - Actions chimiques et biologiques des radiations, 9, 1966, 117 (Masson).

2 - F. PERRIN. - Thèse, Paris, 1929.

3 - J. PERRIN et Melle CHOUCROUN. - C.R. Acad. Sci., 183, 1926, 329.

4 - E. LAFFITTE. - Thèse, Paris, 1954.
C.R. Acad. Sci., 236, 1953, 680.

5 - J. WAWILOW. - Z. Physik., 55, 1929, 69.
A. JABLONSKI. - Bull. Acad. Pol. Sci., A 137, 1934, 14.
S.M. MITRA. - Ind. J. of Phys., 13, 1939, 349.

6 - R. LOCHET et L. ROUZAUD. - Bull. Soc. Fr. Phys., 10, 1949, 16

7 - C. PUJOLS. - Thèse de Troisième Cycle, Bordeaux, 1960.
E. LAFFITTE et C. PUJOLS. - C.R. Acad. Sci., 252, 1961, 1008

8 - N. MACE. - Thèse de Troisième Cycle, Bordeaux, 1961
E. LAFFITTE, C. PUJOLS et N. MACE. - C.R. Acad. Sci., 253, 1961, 2665.

9 - P. PRINGSHEIM et S.J. WAWILOW. - Z. Phys., 37, 1926, 705.
A. JABLONSKI. - Acta Phys. Pol., 4, 1935, 311.
E. LAFFITTE. - Ann. Phys., 10, 1955, 71.

10 - V.A. PILIPOVITCH. - Opt. Spectry., 10, 1961, 104.

11 - F. DÖRR et H. GROPPER et leurs refs., Ber. Phys. Chem., 67, 1963, 193.
E.C. LIM et S.K. CHAKRABARTI. - J. Chem. Phys., 47, 1967, 4726
J.M. LHOSTE et J.B. MERCEILLE. - J. Chim. Phys., 65, 1968, 1899

CHAPITRE II

APPAREILS, MONTAGES ET TECHNIQUES

Au cours de notre travail, nous avons été amené à utiliser divers appareils ; nous ne décrirons pas les appareils commerciaux mais nous insisterons sur les montages et techniques mis au point au laboratoire.

A - SPECTRES D'ABSORPTION

Les spectres d'absorption ont été enregistrés à l'aide d'un Perkin-Elmer type 350 ou 400. Quelques études au cours du refroidissement ont été faites avec un cryostat commercial et des cellules de différentes épaisseurs.

B - SPECTRES DE LUMINESCENCE

Nous avons utilisé tantôt un spectrofluorimètre-phosphorimètre Aminco-Bowman, tantôt un montage réalisé au laboratoire.

AMINCO-BOWMAN

Nous rappellerons simplement que cet appareil comprend deux monochromateurs, l'un sur le faisceau d'excitation filtrant l'émission d'un arc au xénon de 150 watts et l'autre sur le faisceau d'observation.

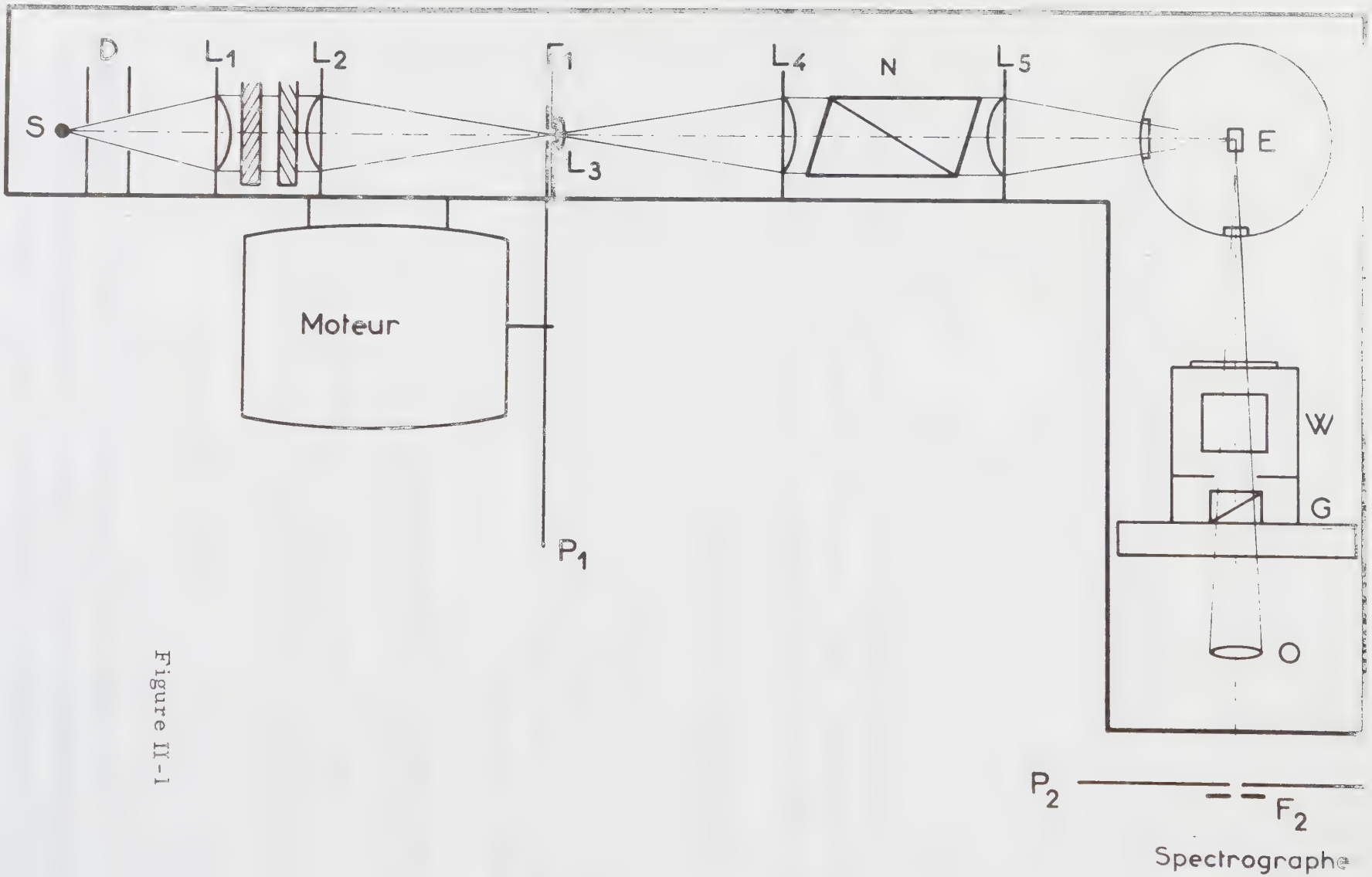


Figure II-1

Ces deux monochromateurs peuvent être asservis indépendamment l'un de l'autre au déroulement d'un enregistreur ; on obtient ainsi des spectres d'émission et d'excitation que nous donnerons sans correction.

La détection utilise un photomultiplicateur 1 P 21 ou R 446 (Hamamatsu).

Le cryostat commercial permet la solidification des solutions liquides ainsi qu'une étude au cours du réchauffement.

MONTAGE DU LABORATOIRE

Le montage que nous avons utilisé est reproduit dans son état actuel sur la figure II-1.

Excitation

- La source S est projetée par un condenseur (L_1 et L_2) sur une fente F_1 horizontale. Cette image intermédiaire est reprise par deux lentilles L_4 et L_5 pour former l'image de la source en vraie grandeur sur l'échantillon E . La lentille L_3 améliore le rendement lumineux en faisant tomber sur L_4 toute la lumière issue de L_2 .

La source est une lampe Philips SP 500 à vapeur de mercure haute pression, refroidie par une circulation d'eau, modulée à 100 éclairs par seconde. Son spectre d'émission est formé d'un fond continu très intense auquel se superposent les raies du mercure. Un petit miroir concave, placé derrière le filament de la lampe, envoie tout le faisceau émis dans l'axe du montage. Deux diaphragmes D limitent le faisceau excitateur.

- Les lentilles L_1, L_2, L_3, L_4 et L_5 , plan-convexes, ont un diamètre de 50 mm et la distance focale est de 15 cm pour L_2, L_3, L_4, L_5 et de 10 cm pour L_1 .

- Un disque de phosphoroscope P_1 de 26 cm de diamètre est placé devant la fente intermédiaire F_1 de manière à couper éventuellement

- On polarise l'excitation, vibration horizontale ou verticale, en orientant convenablement un nicol N placé sur le faisceau parallèle, entre les lentilles L_4 et L_5.

- Des filtres (verres Parra-Mantois, gélatines Wratten et filtres interférentiels Carl Zeiss ou MTO) permettent d'isoler dans le faisceau incident une bande excitatrice de composition spectrale convenable ; ces filtres sont placés sur le faisceau parallèle, entre la lentille L_4 et le nicol. Nous avons aussi utilisé des cuves de 1 cm d'épaisseur remplies d'une solution de nitrite de sodium à 20 % (pour supprimer les radiations ultraviolettes) et de chlorure cuivrique à 2 % (pour absorber les rayons infrarouges) ; ces cuves sont placées entre les lentilles L_1 et L_2

L'ensemble formant l'excitation est monté sur une semelle usinée au laboratoire et qui permet un très bon centrage des pièces

Une partie de notre étude a été faite en excitant avec la raie 632,8 nm émise par un laser Hélium-Néon (Spectra-Phycics) de puissance 30 mW. Le faisceau du laser coïncide alors avec l'axe du faisceau excitateur ; on supprime la source S et les condenseurs mais on conserve le même disque P_1 du phosphoroscope et le nicol N.

Observation

L'observation se fait dans une direction oy perpendiculaire à la direction d'excitation (figure I-2). Le montage de Cornu est fixé sur un support perpendiculaire à celui qui porte le montage d'excitation. Les axes des deux montages sont rigoureusement perpendiculaires.

L'état de polarisation de la luminescence de l'échantillon E est analysé par la méthode de Cornu (1) . Un wollaston W en quartz, de section principale verticale, donne de la trace du faisceau de luminescence deux images séparées dues respectivement aux vibrations d'intensité I_x et I_z (figure II-2). On modifie leurs intensités au moyen d'un glazebrook G , monté sur une alidade qui permet de repérer l'angle α de la direction de passage du glazebrook avec la direction I_x . Un objectif achromatique O (f = 80 mm , Φ = 30 mm) projette deux images du faisceau sur la fente verticale F_2 d'un spectrographe Huet très lumineux (2) . Les éclairements de ces images sont respectivement $I_x \cos^2 \alpha$ et $I_z \sin^2 \alpha$. On recherche la valeur de α pour laquelle ces deux intensités sont égales et on en déduit soit la valeur du facteur de dépolarisation $\rho = \frac{I_x}{I_z} = tg^2 \alpha$, soit la valeur du taux de polarisation :

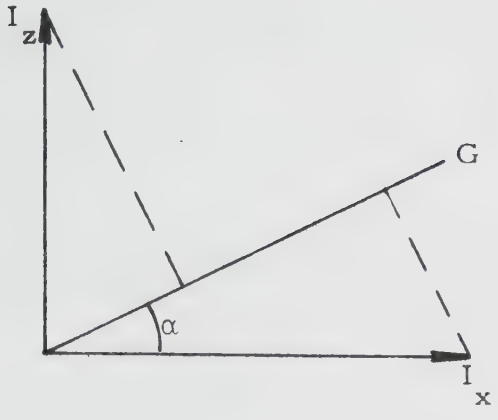


Figure II-2

$$p = \frac{I_z - I_x}{I_z + I_x} = \frac{1-\rho}{1+\rho} = \cos 2\alpha .$$

Les deux faisceaux sortant du glazebrook portent des vibrations de même direction ; elles seront donc traitées de la même manière par le spectrographe.

La modulation du faisceau luminescent est obtenue grâce à un disque P_2 (32 cm de diamètre) placé devant la fente F_2 du spectrographe.

Les deux disques P_1 et P_2 du phosphoroscope (type Becquerel) sont entraînés par deux moteurs synchrones triphasés tournant à une vitesse de 1500 tours par minute. Chaque disque présente quatre ouvertures identiques et équidistantes. Le décalage entre les deux disques qui commandent l'ouverture et la fermeture des faisceaux a été réglé préalablement d'une manière définitive. La largeur du faisceau et les oscillations des disques ne permettent d'étudier que des durées de vie supérieures à la milliseconde.

Le même montage permet évidemment l'étude de la fluorescence Il suffit de ne pas utiliser le phosphoroscope.

C - ETUDE DES CLICHES

Les émulsions photographiques utilisées sont généralement des films ou plan-films Kodak :

- Royal X, sensible jusqu'à 650 nm ,
- 103 aF, permettant d'enregistrer jusqu'à 700 nm environ mais moins sensible que le précédent dans le bleu,
- IN, surtout sensible au-delà de 730 nm ,
- IR 135 et IRHS de haute sensibilité dans l'infrarouge.

Chaque cliché est composé d'une série de spectres obtenus avec différentes valeurs de l'angle α , chaque spectre étant formé de deux images d'intensités respectives $I_z \sin^2\alpha$ et $I_x \cos^2\alpha$. Sur chaque cliché, nous photographions aussi un spectre du mercure, ce qui nous permet d'identifier les différentes régions spectrales.

Les deux images d'un même spectre sont enregistrées successivement à l'aide d'un microdensitomètre enregistreur "Joyce-Loebl" à double faisceau, linéaire en densité. Lorsque les deux enregistrements se coupent en un point, nous connaissons la valeur du taux de polarisation p

pour une longueur d'onde donnée. En opérant ainsi pour chaque spectre, nous obtenons la valeur de p pour une longueur d'onde déterminée. Le regroupement de ces résultats donne point par point le spectre de polarisation (taux de polarisation en fonction de la longueur d'onde d'émission).

La précision que l'on peut attendre d'une mesure du facteur de dépolarisation par la méthode de Cornu et par photographie a été très complètement étudiée par A. MASSOULIER (diplôme de C. MATIVET (3)). Pour les valeurs que nous mesurons l'incertitude relative sur ρ est pratiquement constante :

$$\frac{\Delta \rho}{\rho} = A \ ,$$

on en déduit :

$$\Delta p = \frac{1}{2} (1 - p^2) A \ .$$

On peut pratiquement compter sur une valeur de A de l'ordre de 0,02, valeur qui peut s'abaisser à 0,01 dans les cas favorables. Ce qui veut dire que les taux de polarisation sont mesurés à 0,01 près (si $A = 0,02$) ou à 0,005 près (si $A = 0,01$).

Les enregistrements des spectres seront normalisés en général sur un maximum afin de faciliter la comparaison de la répartition spectrale.

D - OBTENTION DES ECHANTILLONS

Les échantillons solides sont obtenus soit par adsorption d'une couche de colorant dans du plexiglass, soit par polymérisation de méthacrylate de méthyle dans lequel on a au préalable dissous le colorant.

Nous avons aussi utilisé des solutions liquides.

ADSORPTION DU COLORANT AU PLEXIGLASS

La méthode de préparation des échantillons que nous résumerons très brièvement a été mise au point par R. LOCHET (4) . De nombreux résultats obtenus à partir de cette technique avaient déjà confirmé son intérêt.

Les colorants sont incorporés au plexiglass au moyen du chloro-2-éthanol qui est un solvant commun du plexiglass et des colorants. Le colorant est dissous dans une quantité convenable de chloro-2-éthanol Deux lames de plexiglass sont mises en contact par une de leurs faces avec la solution. Par adsorption et dissolution, le colorant pénètre légèrement dans le plexiglass. Au bout d'un certain temps, les lames de plexiglass sont enlevées du bain et séchées. Un léger polissage enlève le voile de petits cristaux à la surface des lames puis celles-ci sont collées à l'aide d'une goutte de solvant. Par séchage à l'étuve, le chloro-2-éthanol progresse dans la masse du plexiglass et s'évapore partiellement ; on obtient alors une solution solide formée par une couche de colorant abandonnée dans le plexiglass. Le bloc est alors soigneusement dressé par fraisage, poli et lustré.

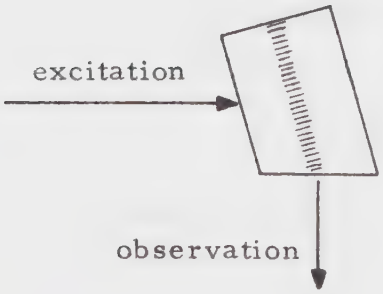


Figure II-3

L'épaisseur de la couche colorée dépend du temps de trempage ; pour nos échantillons, nous avons une épaisseur de 1/2 mm environ.

Des mesures d'absorption faites par G. NOUCHI (5) ont montré que l'on pouvait adopter comme concentration de l'échantillon la concentration de la solution primitive utilisée pour le trempage.

Pour limiter la réabsorption de la luminescence (1), les échantillons sont tronqués et placés comme le montre la figure II-3.

POLYMERISATION DU METHACRYLATE DE METHYLE

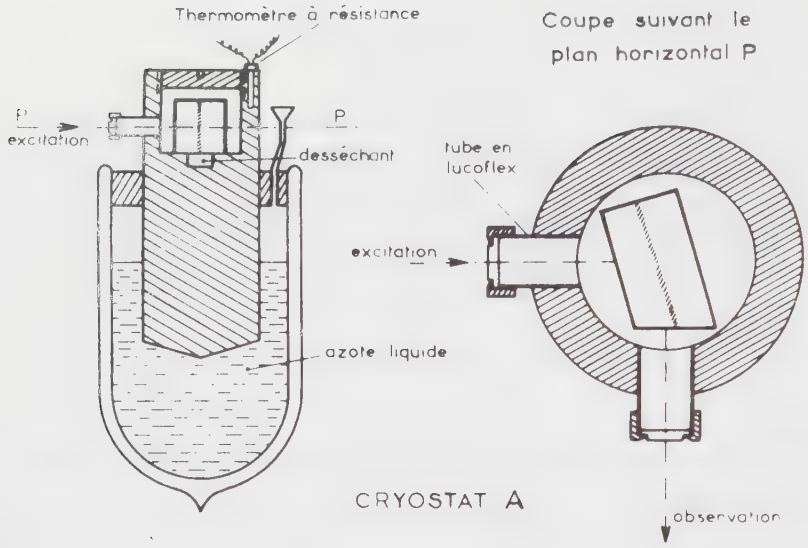
Nous avons fait des essais avec différents solvants vitreux à la température ordinaire et pouvant être colorés dans la masse. C'est avec le méthacrylate de méthyle polymérisé que nous avons obtenu les meilleurs résultats.

Les colorants ne se dissolvent pas dans le méthacrylate de méthyle monomère ; aussi par analogie avec les échantillons de plexiglass, nous utilisons le chloro-2-éthanol solvant commun du colorant et du méthacrylate.

Une certaine masse de colorant est dissoute dans un mélange de chloro-2-éthanol et de méthacrylate de méthyle dont le rapport des volumes est 1/10 ou 1/15. On ajoute du peroxyde de benzoyle (0,01 %) pour déclencher la polymérisation. Celle-ci s'obtient en plaçant le tube à essai contenant la solution dans une étuve à 80°C pendant trois jours. Ensuite, pour détruire le peroxyde, l'échantillon est porté à 90°C pendant vingt-quatre heures ; enfin, on refroidit lentement pour éviter la formation de tensions à l'intérieur du bloc coloré que l'on récupère sous la forme d'un cylindre en brisant le tube.

L'échantillon est découpé dans la partie homogène du bloc. Après fraisage, on obtient un parallépipède de dimensions 12 × 8 × 25 mm environ ; on polit et on lustre les faces exactement comme pour les autres échantillons de plexiglass. Comme le plexiglass, le méthacrylate de méthyle polymérisé (PMAM), absorbe dans l'ultraviolet moyen, ce qui limite son utilisant aux excitations par les radiations du domaine visible.

Plexiglass et PMAM peuvent être étudiés à la température de l'azote liquide sans aucun dommage mais il faut les refroidir lentement dans un cryostat où l'échantillon n'est pas en contact avec l'azote liquide.


Thermomètre à résistance
Coupe suivant le plan horizontal P
P
excitation
P
desséchant
tube en lucoflex
excitation
azote liquide
CRYOSTAT A
observation

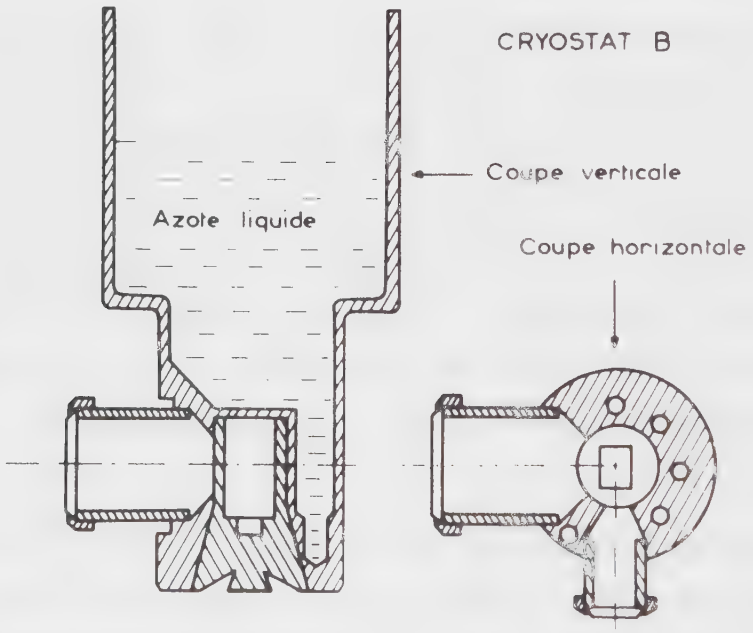

CRYOSTAT B
Coupe verticale
Azote liquide
Coupe horizontale

Figure II-4

Le chloro-2-éthanol a eu deux origines différentes. La monochlorhydrine du glycol, produit Prolabo de qualité technique, était filtrée deux fois sur du charbon activé. Le chloro-2-éthanol de Eastman-Kodak était suffisamment pur pour nos études. Suivant le mode de refroidissement, ce solvant reste vitreux ou cristallise à -69°C .

SOLUTIONS LIQUIDES

La plupart de nos solutions liquides ont pour solvant un mélange d'alcool et d'acide sulfurique de densité 1,83. Ces solutions sont préparées immédiatement avant leur utilisation, car elles évoluent.

Les colorants ont été employés sans purification préalable. Nos spectres de luminescence ont toujours été concordants avec les spectres trouvés dans la littérature et obtenus après purification. D'autre part les valeurs élevées du taux de polarisation de la fluorescence indiquent qu'il y a peu de transferts.

E - CRYOSTATS

Nous avons employé pour les échantillons solides deux cryostats (figure II-4) adaptés aux dimensions des deux types d'échantillon : cryostat A pour le plexiglass et cryostat B pour le PMAM.

L'échantillon est placé dans une chambre limitée par deux faces de verre. Ces deux faces, dont les plans sont perpendiculaires, permettent le passage des faisceaux d'excitation et d'observation. Une cuve, placée dans la chambre, contient de l'anhydride phosphorique afin d'absorber l'humidité et d'empêcher tout givrage des faces internes pendant le refroidissement. Un courant d'air tiède empêche le givrage des faces externes.

Dans le cryostat A, la chambre est creusée dans la partie supérieure d'un cylindre d'aluminium qui émerge de l'azote liquide contenu dans un vase Dewar. Par contre, dans le cryostat B , la chambre est

creusée dans la partie inférieure du bloc d'aluminium dont la partie supérieure, creusée et évasée, reçoit l'azote liquide ; ainsi, on porte plus rapidement l'échantillon à une température voisine de celle de l'azote liquide et la consommation d'azote est réduite.

Un thermo-couple permet de connaître la température du bloc d'aluminium très voisine de celle de l'échantillon.

BIBLIOGRAPHIE DU CHAPITRE II

1 - C. PUJOIS. - Thèse de Troisième Cycle, Bordeaux, 1960.

2 - E. LAFFITTE. - Thèse, Paris, 1954.

3 - C. MATIVET. - Diplôme d'Etudes Supérieures, Bordeaux, 1958.

4 - R. LOCHET et L. ROUZAUD. - Bull. Soc. Fr. Phys., 10, 1949, 14.

5 - G. NOUCHI. - Thèse de Troisième cycle, Bordeaux, 1960.

CHAPITRE III

ETUDE SPECTRALE DE L'ABSORPTION ET DE L'EMISSION POUR UNE EXCITATION PAR LA PREMIERE BANDE $S \rightarrow S^*$

Les études spectrales ont tout d'abord été faites avec tous les colorants inclus dans le plexiglass ou le PMAM (méthacrylate de méthyle polymérisé, chapitre II) à l'exception de la proflavine qui s'y incorpore mal. Avec de tels échantillons, l'enregistrement de l'absorption est limité à la partie visible du spectre, le solvant absorbant les radiations ultraviolettes.

Nous analysons dans ce chapitre les spectres d'émission, la longueur d'onde excitatrice étant variable mais toujours comprise dans la première bande d'absorption $S \rightarrow S^*$. Sans phosphoroscope, on observe à la fois l'émission directe et l'émission retardée (fluorescence lente et phosphorescence) mais en général la fluorescence est prépondérante. Avec phosphoroscope, on observe seulement l'émission retardée. Avec ou sans phosphoroscope, des études ont été faites à la température ambiante et à basse température.

L'émission retardée à basse température est la plus simple parce que seule y participe la transition $T \rightarrow S$, c'est-à-dire la phosphorescence. Nous avons étudié systématiquement l'influence de la concentration et de la longueur d'onde excitatrice. Nous avons mené des études semblables, quelquefois moins complètes, sur l'émission retardée

à la température ambiante (où coexistent la fluorescence lente et la phosphorescence) et sur l'émission totale (sans phosphoroscope).

Des solvants liquides à la température ordinaire tels que l'alcool acidifié et le chloro-2-éthanol nous ont permis d'enregistrer dans le spectre d'absorption aussi bien les bandes ultraviolettes que les bandes visibles. Nous avons aussi étudié l'émission dans ces solvants liquides.

ORANGE D'ACRIDINE (O A)

Comme tous les colorants du même groupe, l'orangé d'acridine existe sous différentes formes ioniques selon le pH de la solution. Les résultats trouvés dans la littérature nous ont paru trop restreints et nous avons fait une étude de l'absorption. Nous avons choisi des solvants liquides à la température ordinaire pour pouvoir mieux faire varier les conditions expérimentales telles que nature du solvant, acidité, température, concentration.

A - REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

L'orangé d'acridine a été longtemps considéré comme le colorant le plus typique du groupe de l'acridine ; c'est la raison pour laquelle il a suscité tant d'intérêt.

A l'aide du spectre d'absorption visible, ZANKER (1) a mis en évidence quatre formes ioniques en fonction du pH ou de l'acidité du milieu : forme basique, monocation, dication et trication.

On sait (2) que la forme neutre présente un maximum d'absorption à la longueur d'onde 433 nm et un maximum de fluorescence à 510 nm, tandis que le monocation a un spectre d'absorption avec maximum à la longueur d'onde 495 nm avec un épaulement à 460 nm et une bande de fluorescence avec maximum à 522 nm.

Il semblerait (3) que, en milieu rigide polymérisé, l'orangé d'acridine base puisse donner lieu à des complexes colorant-polymère

(formés par une liaison hydrogène sur l'azote intracyclique) ayant leur absorption et leur fluorescence propre.

Dans des solutions tamponnées de pH 6, ZANKER (1) observe un déplacement hypsochrome du maximum visible d'absorption quand la concentration augmente. Il en conclut qu'il existe un "dimère" même pour des concentrations aussi faibles que 5.10^{-5} M/l et un "tétramère" pour de plus fortes concentrations. La fluorescence du "dimère" serait décalée vers le rouge par rapport à celle du monomère, à l'inverse de l'absorption.

Depuis ces premières études, d'autres travaux ont confirmé l'existence de "dimères" et de plus hauts agrégats (4, 5, 6). Mc KAY et HILLSON (4), après étude du monocation portant sur l'influence de la concentration en colorant ou en sels auxiliaires (tels que chlorures, bromures et iodures) et sur l'influence de la constante diélectrique du solvant, concluent à une interaction électrostatique ion-contre ion. En même temps, LAMM et NEVILLE (6) à partir de l'absorption dans l'eau du chlorhydrate de l'orangé d'acridine ont déduit les spectres d'absorption de deux "dimères" possibles :

$$2\,D^{+} = D_2^{++} \qquad \text{dimère I (D, monomère; } D_2\text{,dimère)}$$

ou $$2\,D^{+} + A^{-} = D_2A^{+} \qquad \text{dimère II (A, anion).}$$

Les spectres d'absorption de ces deux "dimères" présentent deux bandes encadrant le maximum d'absorption du monomère (tableau II)

Tableau II : longueurs d'onde en nm des maximums d'absorption

dimère I	470	~ 515
dimère II	470	~ 495
monomère	490	

Le dimère I correspond à un couplage fort dans la théorie de l'exciton (7) tandis que le dimère II correspond à l'idée de SHEPPARD et ZANKER selon laquelle la dimérisation induit une redistribution des probabilités de transition entre les états vibrationnels $0 \rightarrow 0$ et $0 \rightarrow 1$. Cependant, les expériences de LAMM et NEVILLE ne leur permettent pas de choisir entre les deux espèces de "dimères" possibles.

KUBOTA et MIURA (5) établissent eux aussi le spectre d'absorption du "dimère" et concluent que les anions ne participent pas à sa formation. Leur "dimère" est bien de la forme I avec un maximum d'absorption à 465 nm et un maximum d'intensité plus faible à 510 nm environ.

Des mesures de durée de vie ont montré que l'orangé d'acridine émet aussi une fluorescence lente (8), une fluorescence retardée (*) (9) et une phosphorescence (8,9).

En excitant par la longueur d'onde 350 nm, certains auteurs (10) ont trouvé deux maximums de phosphorescence à 600 nm et 640 nm. KUBOTA et MIURA (11), en excitant par 500 nm une solution d'orangé d'acridine dans la glycérine, observent seulement le maximum à 600 nm. Constatant d'une part que le spectre d'émission se déplace légèrement vers le rouge quand la concentration augmente, d'autre part que la durée de vie de l'état triplet dépend de la concentration, de la longueur d'onde excitatrice et de la longueur d'onde d'émission, ces auteurs pensent qu'il s'agit à la fois de la phosphorescence du monomère et du "dimère".

(*) On désigne par "fluorescence retardée" une émission qui a pour origine l'annihilation de l'énergie électronique de deux molécules dans l'état triplet suivant le mécanisme : $^3M^* + {}^3M^* \rightarrow {}^1M^* + {}^1M$ et $^1M^* \rightarrow {}^1M + h\nu$.

B - PRESENT TRAVAIL

L'étude de l'orangé d'acridine a été conduite parallèlement à celle de la proflavine dont nous parlerons en second. C'est pourquoi, nous serons parfois amené à introduire à propos de l'orangé d'acridine une interprétation qui se justifiera après l'exposé concernant la proflavine.

Nous avons utilisé différents solvants : l'eau additionnée de soude, l'eau, l'alcool, le chloro-2-éthanol et l'alcool acidifié par de l'acide sulfurique. L'eau et l'alcool sont les solvants les plus couramment employés pour les colorants, et ils nous ont permis de relier notre travail aux données de la littérature. La soude permet de neutraliser les solutions aqueuses ou alcooliques tandis que le chloro-2-éthanol, fortement acide, a été choisi parce qu'il intervient dans la fabrication de nos échantillons de plexiglass ou de PMAM.

Pour acidifier les solutions, nous avons préféré H_2SO_4 à HCl d'une part pour éviter un excès d'ions Cl^- qui nous rapprocherait du chloro-2-éthanol, d'autre part pour connaître l'influence de l'agrégation car nous savions que l'hémisulfate de proflavine a une plus grande tendance à l'agrégation que le chlorhydrate de proflavine (12).

SPECTRE D'ABSORPTION

a) Solutions alcooliques : Influence de l'acidité

En suivant l'évolution du spectre d'absorption en fonction de l'acidité du milieu, on met en évidence les quatre spectres reportés sur la figure III-1 et dont les longueurs d'onde des maximums d'absorption sont groupés dans le tableau III. Dans le tableau IV nous

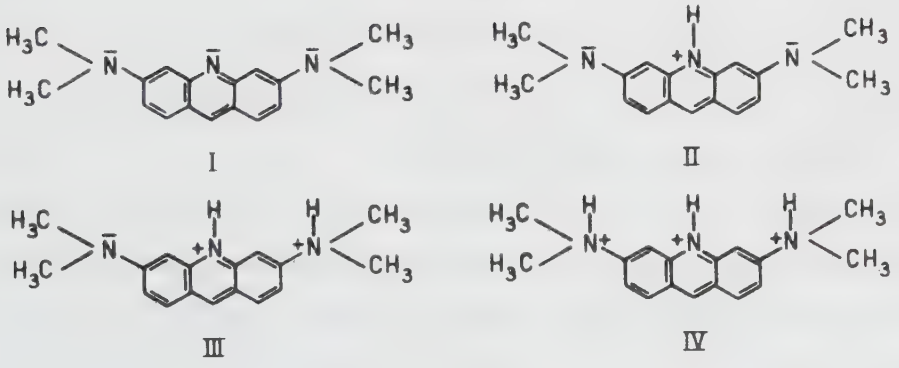
donnons les formules des quatre formes I, II, III et IV.

Tableau III : longueurs d'onde en nm des maximums d'absorption

forme I	427		305-296-270	alcool + NaOH
forme II	490-465		292-269-230	alcool
forme III	525-490	370-355	300-241	OA 28
forme IV	430-400-382	352-335	257	OA 90

Les notations OA 28 et OA 90 désignent une solution d'orangé d'acridine dans un mélange alcool-acide sulfurique contenant respectivement 28 % et 90 % d'acide en volume.

Tableau IV



I II III IV

La forme I, obtenue en milieu basique, est attribuée à l'orangé d'acridine neutre (13).

La forme II, la plus étudiée, correspond au monocation. On a porté la première protonation sur l'atome d'azote intracyclique car le

spectre d'absorption du monocation de l'orangé d'acridine est tout à fait comparable à celui du monocation de la trypaflavine, colorant qui se caractérise par la présence d'un groupement méthyle lié à l'atome d'azote intracyclique et n'existe donc pas sous forme neutre.

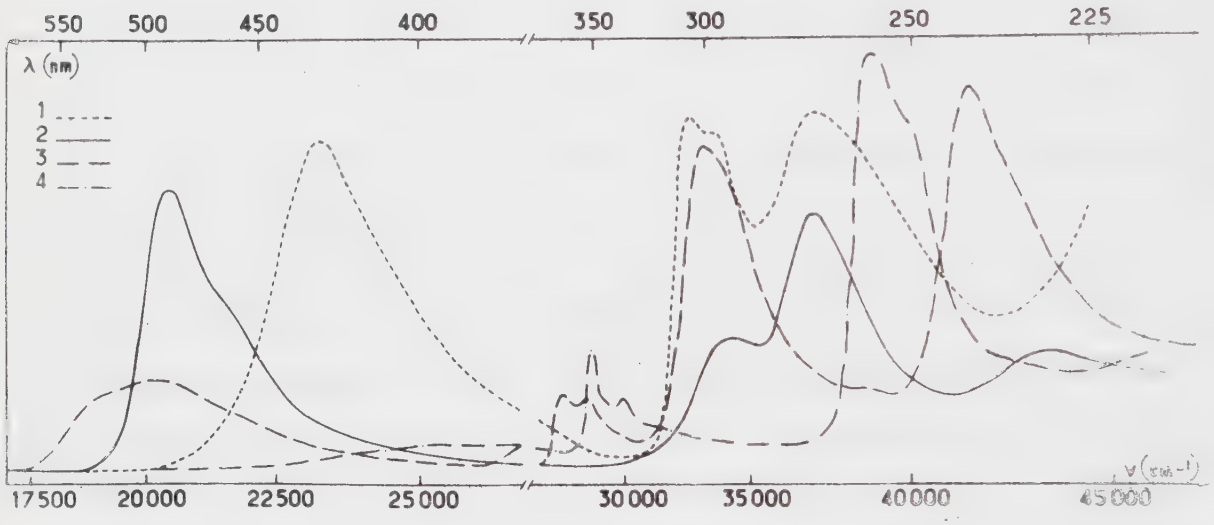


Figure III-1

Orangé d'acridine. Absorption en solutions d'acidité variable

$c = 10^{-4}$ g/cc - température ambiante

1 - alcool neutralisé par la soude

2 - alcool

3 - OA 28 (H_2SO_4 : 28 %, alcool : 72 %)

4 - OA 90 (H_2SO_4 : 90 %, alcool : 10 %)

La forme III correspond au dication (13).

La forme IV, obtenue en milieu très acide, a un spectre d'absorption semblable à celui du cation de l'acridine (13). Cette similitude ne semble pas due à la formation du cation de l'acridine par rupture

des groupements amines mais plutôt à la protonation de ces derniers. La saturation des groupements $-NH(CH_3)_2^+$ réduit leur activité électronique sur le cycle aromatique en leur faisant jouer le rôle des atomes d'hydrogène de l'acridine. En outre nous avons vérifié que l'on pouvait régénérer les formes moins acides par adjonction de soude à la solution ; or cette réversibilité est caractéristique d'un équilibre acide-base. Pour toutes ces raisons, l'hypothèse d'un trication reste la plus vraisemblable.

L'évolution des spectres d'absorption avec l'acidité ne montre aucun point isobestique ; ce qui semble indiquer que nous n'avons jamais un équilibre entre deux espèces seulement à la concentration 10^{-4} g/cc. Si dans une solution alcoolique on ajoute des quantités d'acide croissantes mais cependant assez faibles pour que la proportion de dication reste inférieure à celle du monocation, on constate que l'intensité du domaine ultraviolet augmente fortement, la bande visible variant peu.

b) Solutions aqueuses

- Influence de la concentration

Nous avons opéré dans un domaine de concentrations compris entre 10^{-2} et 10^{-6} g/cc. Quand la concentration augmente, on observe la croissance de l'épaulement à la longueur d'onde 465 nm, et sa transformation en maximum à partir de la concentration 10^{-4} g/cc (figure III-2). En même temps, le spectre s'élargit vers les grandes longueurs d'onde à 525 nm environ. De plus, la loi de Beer-Lambert n'est pas vérifiée dans ce domaine de concentrations. Le déplacement de la bande visible pourrait s'expliquer par une interaction eau-colorant, variable avec la concentration. Ainsi, avec des solutions aqueuses concentrées, l'eau agirait par sa fonction basique et le spectre

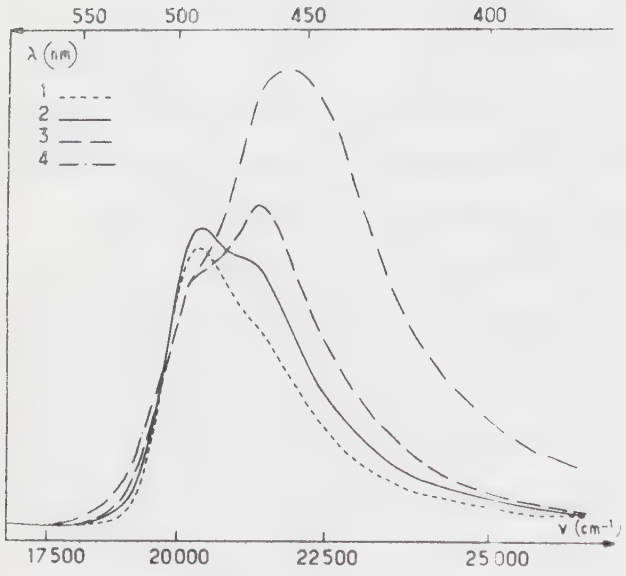


Figure III-2

Orangé d'acridine
Absorption en solutions aqueuses de différentes concentrations

Température ambiante

1 - c = 10^{-6} g/cc
2 - c = 10^{-5} g/cc
3 - c = 10^{-4} g/cc
4 - c = 10^{-3} g/cc

serait déplacé vers le bleu, tandis que pour les solutions de plus faibles concentrations l'eau agirait par sa fonction acide et le spectre serait déplacé vers le rouge. Mais ce rôle amphotère de l'eau n'explique pas l'augmentation de l'absorption vers 510 nm, observée avec des concentrations élevées. Aussi, pour essayer de préciser l'origine des déplacements et de l'épaulement, nous avons étudié l'influence de l'acidité.

- Influence de l'acidité

Nous reportons sur la figure III-3 les spectres d'absorption obtenus avec une solution aqueuse de concentration 10^{-4} g/cc, acidifiée ou contenant de la soude. Les effets observés sont comparables à ceux que nous avons trouvés dans le cas des solutions alcooliques, mais nous ne retrouvons pas les résultats obtenus en faisant varier la concentration. Ces derniers résultats ne peuvent s'expliquer que par

l'existence d'une auto-association dans les solutions de concentrations élevées.

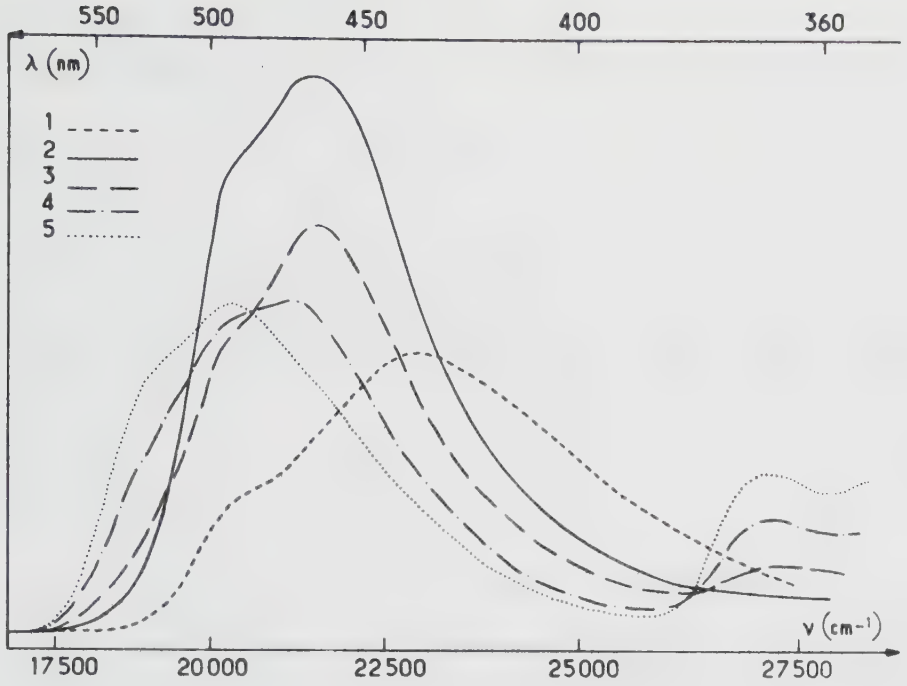


Figure III-3

Orangé d'acridine. Absorption en solutions aqueuses d'acidité variable

$c = 10^{-4}$ g/cc - température ambiante

1 - NACH : 1 % 2 - eau : 100 %

3 - H_2SO_4 : 2 % 4 - H_2SO_4 : 6 %

5 - H_2SO_4 : 14 %

c) Solutions dans le plexiglass

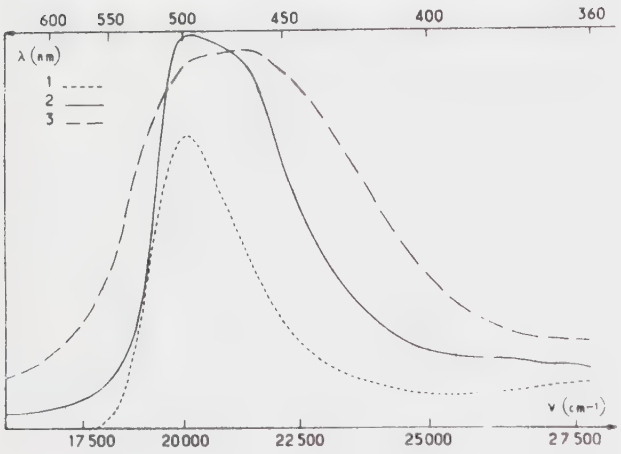


Figure III-4

Orangé d'acridine

Absorption dans le plexiglass

Température ordinaire

1 - $c = 0,5 . 10^{-4}$ g/cc

2 - $c = 0,43 . 10^{-3}$ g/cc

3 - $c = 0,43 . 10^{-2}$ g/cc

Les spectres d'absorption obtenus à différentes concentrations dans le plexiglass sont donnés sur la figure III-4. L'apparition, lorsque la concentration augmente, d'un maximum vers 465 nm et d'un épaulement vers 525 nm est en faveur de l'existence, dans ces échantillons, d'un associat et du monocation. D'ailleurs nous avons constaté au cours du séchage de l'échantillon le plus concentré une augmentation de l'intensité relative du maximum à 465 nm. L'évaporation partielle du chloro-2-éthanol en rapprochant les molécules de colorant favorise la formation de l'associat responsable de ce maximum.

L'élargissement du spectre d'absorption lorsque la concentration passe de 10^{-3} à 10^{-2} g/cc, à la fois vers les grandes et les courtes longueurs d'onde, pourrait être dû à l'existence de plus hauts associats comme l'admet ZANKER (1).

Dans la région 370 nm, l'absorption toujours faible quelle que soit la concentration indique une proportion de dication peu importante.

Ces résultats sont confirmés par les spectres d'absorption enregistrés au cours du refroidissement d'une solution d'orangé d'acridine dans le chloro-2-éthanol (14), solvant plus acide que le plexiglass. Ces spectres d'absorption (que nous ne reproduisons pas) ne montrent pas les bandes caractéristiques du dication, indiquant ainsi une faible proportion de forme III ; d'autre part, on observe une forte augmentation des bandes du monocation comme dans le cas où l'on acidifie légèrement l'alcool. On observe ainsi, comme notre étude de la proflavine le confirmera, que la diminution de la température modifie le comportement du chloro-2-éthanol comme si l'acidité augmentait.

En outre, l'augmentation de l'acidité du milieu semble détruire l'associat pour donner le monocation, avant de favoriser la formation du dication. Cette évolution se suit mieux dans l'ultraviolet (où les bandes d'absorption du monocation et du dication sont nettement séparées) que dans le visible (où la superposition des différentes bandes et donc des différents phénomènes empêche de conclure). L'associat, ne pouvant alors être dû ni à un complexe dication-trication ni à une association monocation-anion, ne peut être dû qu'à une interaction des monocations entre eux. L'associat de deux molécules portant alors deux charges positives, on peut attendre qu'il se forme dans un domaine d'acidité plus forte que le monocation et plus faible que le dication à cause de la répulsion coulombienne.

SPECTRE DE FLUORESCENCE ET SON SPECTRE D'EXCITATION

Nous avons vu que les spectres d'absorption révèlent l'existence de différents centres : formes ioniques et moléculaire ou associat. Les émissions de chaque centre (si elles existent) sont beaucoup plus difficiles à mettre en évidence que leurs absorptions. En effet, dans une solution, nous avons toujours un équilibre entre plusieurs formes dont les fluorescences respectives peuvent entrer en concurrence par transfert, désactivation, réabsorption, sans oublier que les constantes d'émissions radiatives ne sont probablement pas les mêmes. De plus, les constantes d'équilibre ne sont pas forcément les mêmes dans l'état fondamental et dans le premier niveau singulet excité.

Pour essayer de lever l'ambiguïté entre l'émission de ces diverses espèces, nous avons étudié à la fois la fluorescence et son spectre d'excitation.

a) Solutions alcooliques : Influence de l'acidité

Tout d'abord, nous avons comparé les spectres relatifs à la seule concentration 10^{-4} g/cc et à la température ambiante.

Sur la figure III-5, nous reportons les spectres de fluorescence les plus caractéristiques des formes I à IV ainsi que leurs spectres d'excitation.

Dans l'alcool, nous obtenons la fluorescence de la forme II ou monocation avec un maximum à la longueur d'onde 525 nm, en accord avec les données de la littérature. Le spectre d'excitation, présentant

des maximums respectivement à 470 et 490 nm, est compatible avec le spectre d'absorption.

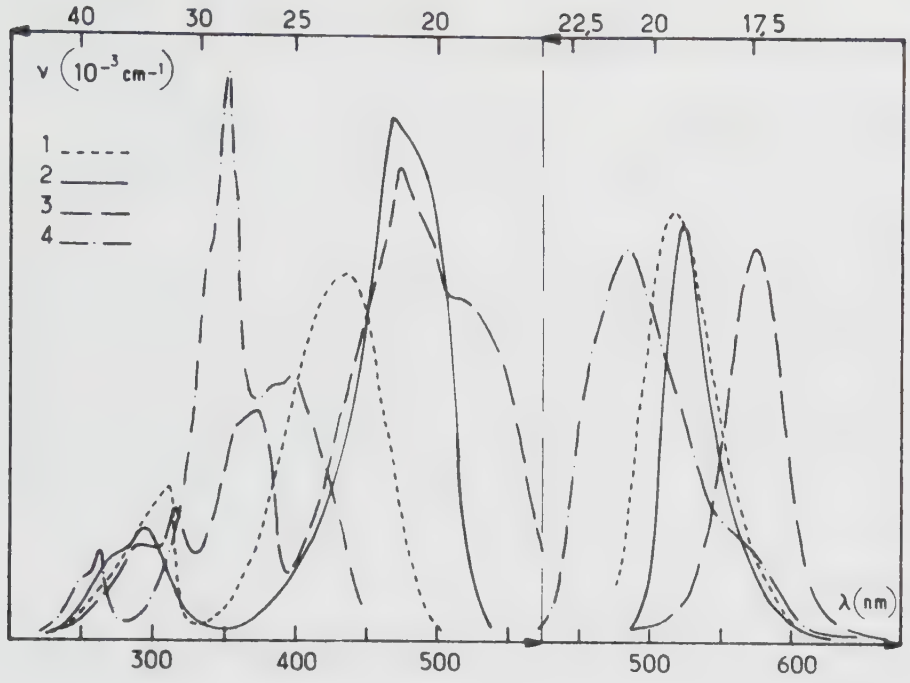


Figure III-5

Orangé d'acridine. Fluorescence et son spectre d'excitation

c = 10^{-4} g/cc - température ambiante

1 - alcool + NaOH

2 - alcool

3 - OA 30 : λ ex = 380 nm , λem = 570 nm

4 - OA 50 : λ ex = 360 nm , λem = 480 nm

La forme I ou neutre, dont la bande d'excitation a son maximum à 435 nm comme on le voit en milieu sodique, émet une bande de fluorescence faible qui déplace le maximum vers les plus courtes longueurs d'onde à 515 nm. Nous admettons que nous avons un

équilibre entre les forme I et II. A l'état fondamental, la forme I est prépondérante puisqu'on n'observe pas l'absorption spécifique de la forme II dont le coefficient d'absorption est cependant supérieur.

L'émission de la forme I que l'on ne peut séparer complètement de celle de la forme II implique :

- soit un transfert d'énergie $S^* - S^*$ partiel vers la forme II
- soit une probabilité d'émission radiative plus faible pour la forme I que pour la forme II.
- soit une constante d'équilibre entre ces deux formes, différente dans l'état fondamental et dans le premier niveau singulet excité.

Essayons de déduire du cycle de FORSTER (15), concernant un équilibre acido-basique, le sens de variation de cet équilibre lorsqu'on porte les molécules dans un état excité. Appelons K et K^* les constantes d'équilibre à l'état fondamental et à l'état excité. FORSTER, en examinant les conditions thermodynamiques qui prévalent dans l'état excité, a montré que :

$$pK - pK^* = \frac{\Delta E_{acide} - \Delta E_{base}}{RT}$$

ΔE_{acide} et ΔE_{base} sont les énergies de la transition correspondante dans l'acide et la base conjuguée ; R , la constante des gaz parfaits ; T , la température absolue.

On peut aussi écrire :

$$pK - pK^* = \frac{0,625}{T} \Delta\nu_{A-B}$$

$\Delta\nu_{A-B}$ étant la différence de fréquence exprimée en cm^{-1} de la transition dans l'acide et la base conjuguée.

Bien que nos colorants ne soient pas en milieu aqueux et qu'il soit plus exact de parler d'affinité protonique nous utiliserons le terme de pK en raison de sa commodité.

La concordance entre les pK mesurés expérimentalement et les pK calculés est la meilleure lorsqu'on utilise la fréquence de la raie 0 - 0 ; celle-ci étant la moyenne des fréquences du maximum visible d'absorption et du maximum de fluorescence (16).

Si l'on applique le cycle de FORSTER à l'équilibre entre les formes I et II de l'orangé d'acridine, nous avons $\Delta E_I > \Delta E_{II}$, c'est-à-dire : $pK < pK^*$. Ainsi dans la solution sodique étudiée nous devons avoir plus de forme acide à l'état singulet excité qu'à l'état fondamental, ce qui peut permettre d'expliquer le spectre de fluorescence obtenu.

La forme III ou dication émet une bande de fluorescence présentant un maximum à la longueur d'onde 570 nm et l'on retrouve les domaines d'absorption centrés sur 360 et 525 nm dans son spectre d'excitation.

La forme IV ou trication, que l'on reconnaît à l'aide de son spectre d'excitation très différent des précédents, émet vers 450 et 480 nm. Le cycle de FORSTER, appliqué à l'équilibre III-IV, indique que dans l'état singulet excité nous devons attendre un déplacement de l'équilibre vers une forme moins acide, expliquant la faible bande de fluorescence vers 575 nm.

Nous avons regroupé dans le tableau V les maximums de fluorescence des différentes formes.

Tableau V . longueurs d'onde en nm des maximums de fluorescence

forme I	forme II	forme III	forme IV
515	525	570	450 480

Comme nous l'avons dit plus haut, les spectres donnés sur la figure III-5 sont les plus caractéristiques des quatre formes ioniques ou moléculaire. Cependant nous avons observé que ces spectres d'excitation et de fluorescence dépendaient en général les premiers de la longueur d'onde d'émission et les derniers de la longueur d'onde excitatrice. Ceci peut être relié au changement de pK entre l'état fondamental et l'état singulet excité. On admet (17) que de nombreuses réactions de protonation sont contrôlées par des processus de diffusion mais que les réactions inverses sont en général trop lentes pour être contrôlées par un processus de diffusion. Comme nous opérons en milieu non aqueux et non tamponné, il est vraisemblable que le déplacement de l'équilibre entre les formes ioniques ou moléculaire dans l'état excité n'a pas le temps de s'établir pendant la durée de vie de la molécule dans l'état singulet excité (18). Expérimentalement nous observons alors un déplacement partiel de l'équilibre, ce qui donne un grand intérêt aux spectres d'excitation.

Nous signalerons maintenant un cas particulier observé dans l'intervalle d'acidité étudié et qui ne s'explique pas par les formes I à IV vues précédemment. Une étude plus complète a été faite avec la proflavine ; dans le cas de l'orangé d'acridine nous ne donnerons que quelques indications.

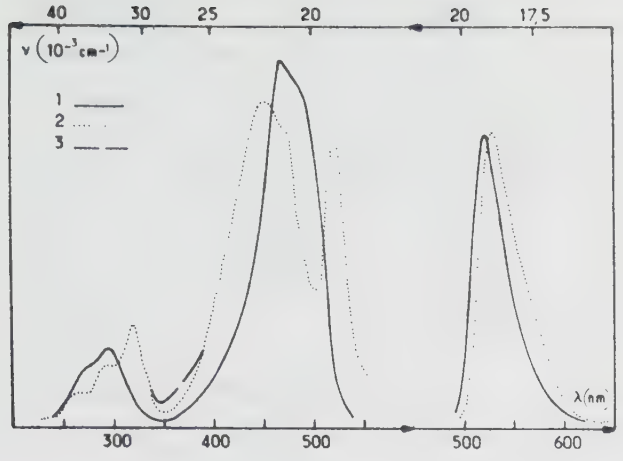


Figure III-6

Orangé d'acridine

Fluorescence et son spectre d'excitation

$c = 10^{-4}$ g/cc

Température ambiante

1 - alcool

2 - OA 10 (λ ex = 450 nm
λ em = 525 nm)

3 - OA 10 (λ em = 560 nm)

Les spectres de fluorescence et d'excitation d'une solution OA 10 sont reportés sur la figure III-6 en même temps que ceux de la forme II. Le spectre de fluorescence ressemble à celui du monocation, légèrement décalé vers le rouge. Son spectre d'excitation montre deux bandes à 460 et 520 nm environ, bandes qui nous l'avons vu appartiennent à l'associat. Par analogie avec le déplacement bathochrome du maximum de fluorescence des amines aromatiques, que l'on relie à la fluorescence de l'associat (19), nous pensons qu'il existe une émission de l'associat de l'orangé d'acridine (forme V).

b) Solutions dans le plexiglass

Sur la figure III-7 nous reportons les spectres d'émission totale à la température ordinaire pour différentes concentrations. Nous remarquons trois maximums aux longueurs d'onde 545, 600 et 640 nm. Dans le plexiglass nous obtenons, dès la température ambiante, une émission de phosphorescence très intense, comme le montre la comparaison des figures III-7 et III-8 . Seul le spectre 1 de la figure III-8 est pur, car il correspond à la seule transition $T \rightarrow S$.

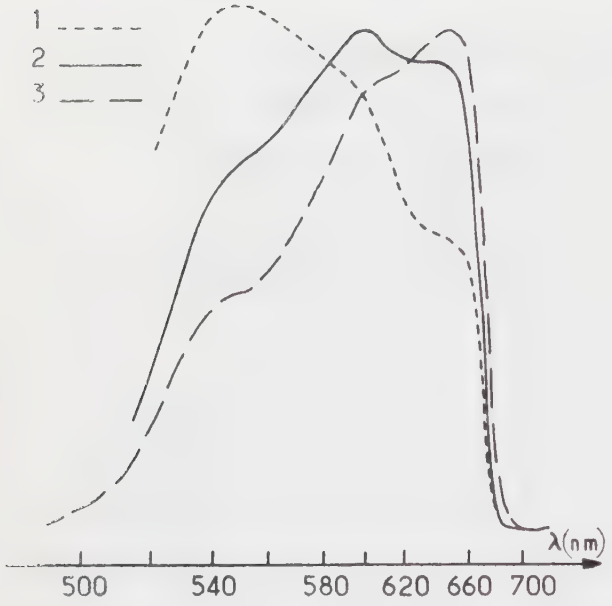


Figure III-7

Orangé d'acridine

Emission totale dans le plexiglass

Température ambiante

$\lambda ex \sim 415$ nm

1 - $c = 0,5.10^{-4}$ g/cc

2 - $c = 0,5.10^{-3}$ g/cc

3 - $c = 0,5.10^{-2}$ g/cc

Figure III-8

Orangé d'acridine dans le plexiglass

$c = 0,5.10^{-3}$ g/cc

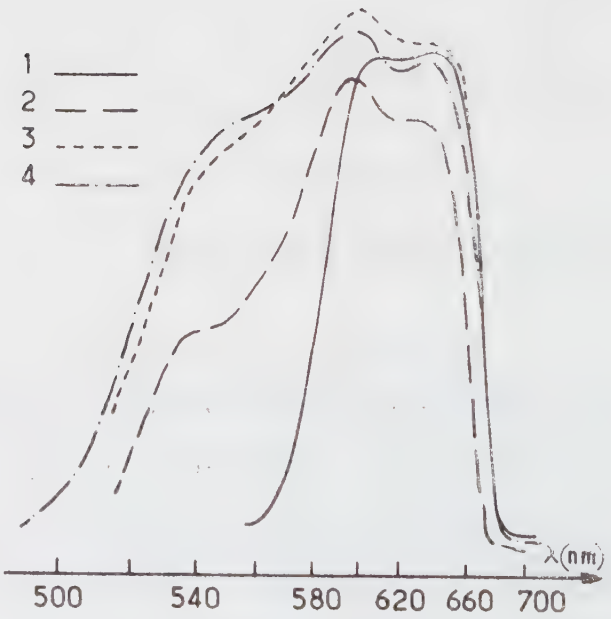
$\lambda ex \sim 415$ nm

1 - Phosphorescence à basse température

2 - Emission totale à basse température

3 - Emission totale à température ambiante

4 - Emission retardée à température ambiante.



L'émission retardée à la température ordinaire (courbe 4) est la superposition de la fluorescence lente et de la phosphorescence ; seules les courtes longueurs d'onde de ce spectre peuvent être considérées comme spécifiques de la fluorescence lente. L'émission totale à basse température (courbe 2) est la superposition de la fluorescence et de la phosphorescence. Enfin la courbe 3, émission totale à la température ordinaire, contient à la fois la fluorescence, la fluorescence lente et la phosphorescence.

Les bandes d'émission à 600 et 640 nm sont dues à la phosphorescence; seule la bande à 545 nm peut être attribuée à la fluorescence comme on le voit sur les figures III-7 et III-9 obtenues à la température ambiante et à basse température.

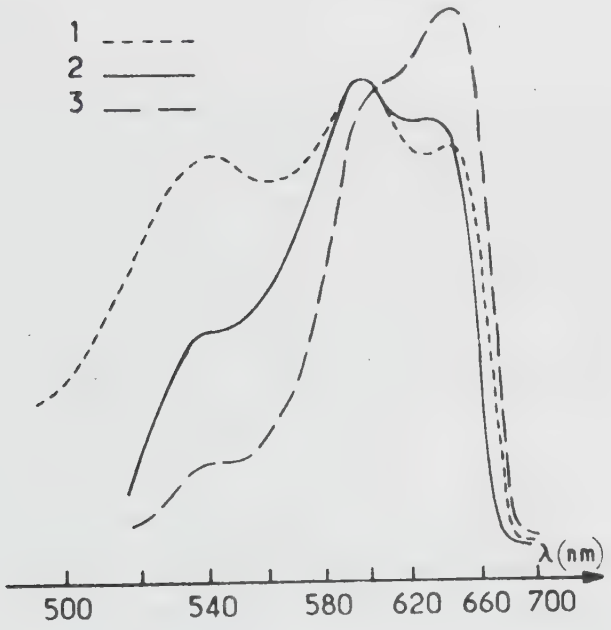


Figure III-9

Orangé d'acridine dans le plexiglass
Emission totale à basse température. $\lambda ex \sim 415$ nm

1 - $c = 0,5.10^{-4}$ g/cc
2 - $c = 0,5.10^{-3}$ g/cc
3 - $c = 0,5.10^{-2}$ g/cc

Dans le plexiglass, la fluorescence de l'orangé d'acridine ne présente qu'un maximum. Sa longueur d'onde est différente de celles que nous avons obtenues avec des solutions liquides. Cependant nous

pensons que la fluorescence à 545 nm est due à la superposition des émissions des formes II, III et V. En effet à l'état fondamental nous avons essentiellement le monocation et l'associat ; et à l'état excité, la variation de pK ne peut qu'augmenter la proportion de forme III. De plus, lorsque la concentration augmente, l'intensité de la fluorescence décroit par rapport à celle de la phosphorescence, variation dans le sens attendu.

SPECTRE DE PHOSPHORESCENCE ET SON SPECTRE D'EXCITATION

a) Solutions alcooliques

Par analogie avec l'absorption et la fluorescence on devrait attendre l'émission $T \rightarrow S$ des quatre formes ioniques ou moléculaire, à condition de faire varier l'acidité des solutions dans un très large domaine. Mais nous n'avons pas pu étudier systématiquement des solutions très basiques ni très acides car le refroidissement de ces solutions à 77°K s'accompagne d'une augmentation de volume qui fait éclater le récipient de silice.

L'émission de phosphorescence d'une solution alcoolique se caractérise par un maximum de longueur d'onde 605 nm et par un épaulement vers les grandes longueurs d'onde. Par analogie avec la proflavine nous admettons qu'il s'agit de l'émission $T \rightarrow S$ de la forme II.

En milieu plus basique, le spectre de phosphorescence s'élargit vers le rouge avec déplacement du maximum. La décomposition de cette émission donne pour le spectre de phosphorescence de la forme I un maximum à 630 nm et un épaulement vers 670 nm.

En milieu légèrement plus acide que l'alcool, nous observons la croissance de l'épaulement de grande longueur d'onde.

Nous regroupons dans le tableau VI les maximums approximatifs des phosphorescences.

Tableau VI : longueurs d'onde en nm des maximums de phosphorescence

forme I	forme II	forme III
630 ~ 670 (épaulement)	605	~ 660

En regardant ce tableau, on constate que la longueur d'onde du maximum de phosphorescence de la forme I est supérieure à celle du maximum de phosphorescence de la forme II, alors que c'est le contraire pour les maximums d'absorption et de fluorescence. A l'aide du cycle de FORSTER, on peut évaluer la différence de pK entre l'état triplet et l'état fondamental S . L'absorption S → T n'est pas connue, mais on peut quand même obtenir un ordre de grandeur du pK dans l'état triplet (pK_T) en utilisant les maximums de phosphorescence de l'acide et de la base conjuguée (16) :

$$pK_S - pK_T \sim 1,3$$

ce qui entraîne pour l'équilibre I ⇄ II :

$$pK_T < pK_S < pK_S^*$$

résultat inhabituel que la phosphorescence de la proflavine confirmera.

b) Solutions dans le plexiglass

L'émission de phosphorescence dans le plexiglass montre deux maximums de longueurs d'onde 605 et 640 nm environ. Le maximum 605 nm peut être attribué au monocation sans ambiguïté. Nous avons recherché l'influence de la concentration (figure III-10) et celle de la longueur d'onde excitatrice (figure III-11). Pour une excitation centrée autour de la longueur d'onde 415 nm, nous constatons que le spectre d'émission se déplace légèrement vers le rouge quand la concentration augmente. Nous pouvons penser que la phosphorescence de l'associat est très légèrement différente de celle du monocation, en accord avec les résultats obtenus pour la proflavine. En effet nous verrons alors que les plus courtes longueurs d'onde de la phosphorescence donnent un spectre d'excitation analogue à celui du monocation tandis qu'à des longueurs d'onde d'émission un peu supérieures correspond le spectre d'excitation de l'associat.

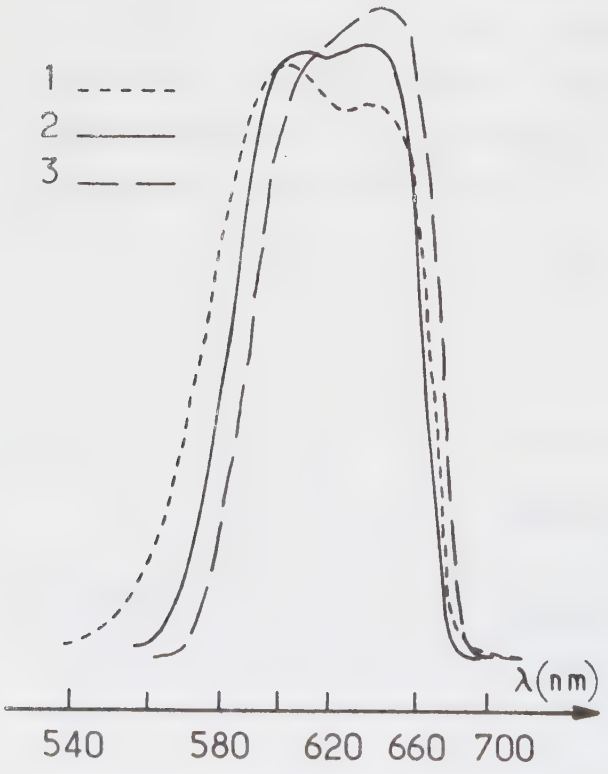


Figure III-10

Orangé d'acridine dans le plexiglass. Phosphorescence à basse température

$\lambda ex \sim 415$ nm

1 - $c = 0,5.10^{-4}$ g/cc
2 - $c = 0,5.10^{-3}$ g/cc
3 - $c = 0,5.10^{-2}$ g/cc

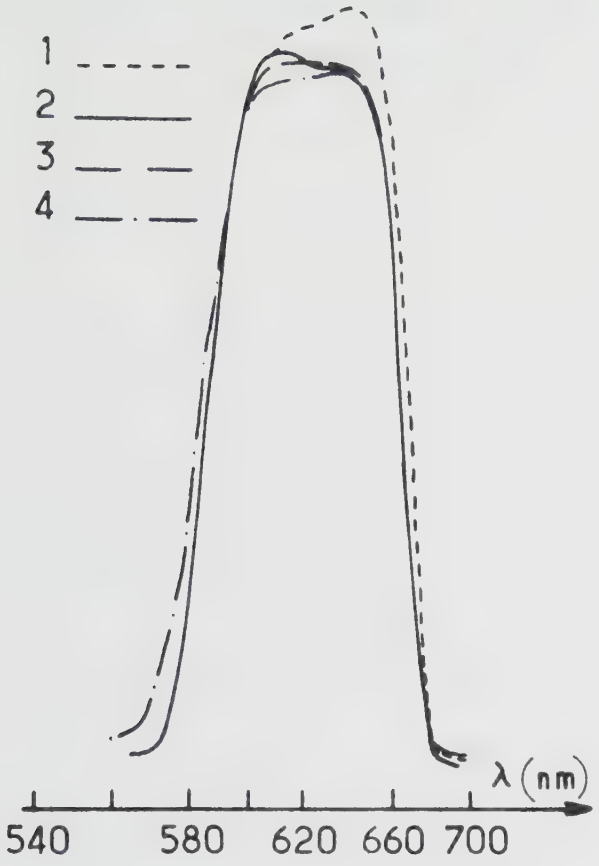


Figure III-11

Orangé d'acridine dans le plexiglass
Phosphorescence à basse température
$c = 0,5.10^{-3}$ g/cc

1 - $\lambda ex \sim 490$ nm
2 - $\lambda ex \sim 475$ nm
3 - $\lambda ex \sim 436$ nm
4 - $\lambda ex \sim 415$ nm

L'influence de la longueur d'onde excitatrice (figure III-11) ne permet ni d'infirmer ni de confirmer cette attribution car l'excitation ne peut être sélective, la bande excitatrice devant toujours être large pour que l'émission ait une intensité mesurable.

La phosphorescence dans le plexiglass montre aussi une bande d'émission de grande longueur d'onde, vers 640 nm environ. Par sa position, elle pourrait être attribuée aux formes I ou III, sans oublier la possibilité d'une structure vibrationnelle de la forme II, possibilité que nous éliminerons. La valeur de pK_T inférieure à pK_S dans l'équilibre entre les formes I et II serait en accord avec l'existence de la forme I ; cependant la comparaison des spectres

de phosphorescence dans le plexiglass de l'orangé d'acridine et de la trypaflavine (colorant que nous étudierons un peu plus loin) conduit à éliminer cette hypothèse.

BIBLIOGRAPHIE DE L'ORANGE D'ACRIDINE

1 - V. ZANKER. - Z. Phys. Chem., 199, 1952, 225
et 200, 1952, 250.

2 - T. KOMIYAMA et T. MIWA et M. KOIZUMI. - Bull. Chem. Soc. Jap., 39, 1966, 2597.

3 - A. OLSZOWSKI et Z. RUZIEWICZ. - Bull. Acad. Pol. Sc., 10, 1962, 605.

4 - R.B. Mc KAY et P. J. HILLSON. - Trans. Faraday Soc., 61, 1965, 1800.

5 - Y. KUBOTA et M. MIURA. - J. Sci. Hiroshima Univ., A_2 30, 1966, 49.

6 - M. E. LAMM et D. R. NEVILLE. - J. Phys. Chem., 69, 1965, 3872.

7 - M. KASHA, H.R. RAWLS et M. ASHRAF EL-BAYOUMI. - VIII^{e} Congrès Européen de Spectroscopie Moléculaire, Copenhague, 1965.

8 - G.A. MOKEEVA et B. Ya. SVESHNIKOV. - Opt. Spectry., 10, 1961, 41.

9 - C.A. PARKER, C.G. HATCHARD et T.A. JOYCE. - J. Mol. Spectry., 14, 1964, 311.

10 - J. POSTHUMA et W. BERENDS. - Biochim. Biophys., 112, 1966, 422.

11 - Y. KUBOTA et M. MIURA. - Bull. Chem. Soc. Jap., 42, 1969, 2763.

12 - M. EWALD. - Thèse de Troisième Cycle, Orsay, 1969.

13 - V. ZANKER. - U.V. Atlas, Butterworths, Londres, 1966.

14 - N. MALIQUE. - Thèse de Troisième Cycle, Bordeaux, 1970.
N. MALIQUE et G. NOUCHI. - C.R. Acad. Sc., 270, 1970, 1559.

15 - T. FORSTER. - Z. Electrochem., 54, 1950, 42.

16 - H. H. JAFFE, D. L. BEVERIDGE et H. L. JONES. - J. Amer. Chem. Soc., 86, 1964, 2932.
H. BEENS, K. H. GRELLMANN, E. GURR et A. WELLER. - Disc. Farad. Soc., 39, 1965, 183.

17 - H. H. JAFFE et M. ORCHIN. - Theory and Applications of Ultraviolet Spectroscopy, 1964, p. 156.

18 - S. G. SCHULMAN, A. C. CAPOMACCHIA et M. S. RIETTA. - Anal. Chim. Acta, 56, 1971, 91.
R. BONNEAU. - Thèse d'Etat, Bordeaux, 1971.

19 - R. S. DAVIDSON et M. SANTHANAM. - J. Chem. Soc., B 1971, 1151.

PROFLAVINE (Pr)

La proflavine est le colorant le plus simple du groupe de l'acridine ; il se différencie de l'orangé d'acridine par le remplacement des deux substituants méthylés de l'atome d'azote extracyclique par des hydrogènes.

A - REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

Les travaux que nous allons citer datent des dix dernières années.

En étudiant une solution aqueuse de pH = 4 , MILLICH et OSTER (1) observent des maximums d'absorption de longueurs d'onde 444 et 260 nm qu'ils attribuent à la forme monoprotonée. Dans l'éthanol, la bande visible est déplacée vers les grandes longueurs d'onde.

HAUGEN et MELHUISH (2) , pour interpréter leurs spectres d'absorption en solution aqueuse de pH = 4 , admettent l'existence d'un "dimère" dont le spectre visible est constitué de deux bandes : la bande de plus courte longueur d'onde est maximale vers 430 nm tandis que l'autre, deux fois plus intense, est maximale vers 470 nm . Observant une forte extinction de la fluorescence lorsque la concentration augmente, ces auteurs concluent que le "dimère" n'est pas fluorescent.

Un travail plus récent (3) indique pour le spectre d'absorption du "dimère" dans des solutions tamponnées deux maximums d'intensités voisines de longueurs d'onde 430 et 455 nm.

Le maximum de fluorescence du monocation est observé à la température ambiante à 50 nm dans des solutions de glycérol et d'éthanol pour une concentration de 10^{-4} M/l (4).

Certains auteurs (1) constatent que la fluorescence dépend du pH : jaune pour un pH supérieur à 10, verte pour un pH compris entre 9 et 2, or pour un pH inférieur à 1. GRZYWACZ (5) observe sans l'expliquer un léger déplacement (de 486 à 497 nm) du maximum de fluorescence quand la concentration passe de 3.10^{-6} à 2.10^{-4} g/cc ; nous noterons qu'il excite la fluorescence par la longueur d'onde 365 nm dans une solution de PMAM (méthacrylate de méthyle polymérisé) contenant de l'éthanol acidifié par HCl.

BIRKS et GRZYWACZ (6) en étudiant la fluorescence de longue durée dans le PMAM constatent une influence de la longueur d'onde excitatrice : l'excitation par 365 nm déplace la fluorescence vers les courtes longueurs d'onde par rapport à l'excitation par 430 nm. Ces auteurs pensent à un mélange d'espèces sans toutefois en rechercher la nature.

Nous avons remarqué que très souvent on excite la fluorescence par la longueur d'onde 365 nm dont nous serons amené à reparler.

La fluorescence lente est 10.000 fois plus faible que la fluorescence normale dans l'éthanol (4). On observe son maximum à 492 nm, tandis que dans le PMAM (5) il se trouve à 498 ou 510 nm suivant la concentration.

Le maximum de phosphorescence est observée à la longueur d'onde 582 nm dans l'éthanol (7), à 565 nm dans l'eau (8) et à 570 nm dans la glycérine (9). KUBOTA et MIURA (9) obser-

vent un signal RPE qui dépend de la concentration. Ils concluent à un équilibre monomère-dimère en concordance avec leur étude d'absorption (dont ils ne donnent aucune indication).

B - PRESENT TRAVAIL

L'étude de la proflavine a été conduite parallèlement et d'une façon analogue à celle de l'orangé d'acridine.

SPECTRE D'ABSORPTION

La figure III-12 montre les spectres d'absorption à la température ambiante dans les quatre solvants : eau, eau additionnée de soude, alcool, chloro-2-éthanol, pour une même concentration (10^{-4} g/cc). L'effet du solvant sur la position de la bande visible est très net.

a) Solutions alcooliques

- Influence de la concentration

Dans un domaine de concentration variant de 10^{-5} à 10^{-3} g/cc, il n'y a pas d'écart important à la loi de Beer-Lambert et l'allure du spectre reste la même. L'absorption visible comprend un seul maximum de longueur d'onde 445 nm, tandis que dans l'ultraviolet on trouve un maximum principal de longueur d'onde 260 nm, une bande faible à 230 nm et deux épaulements situés approximativement à 280 et 305 nm (figure III-12).

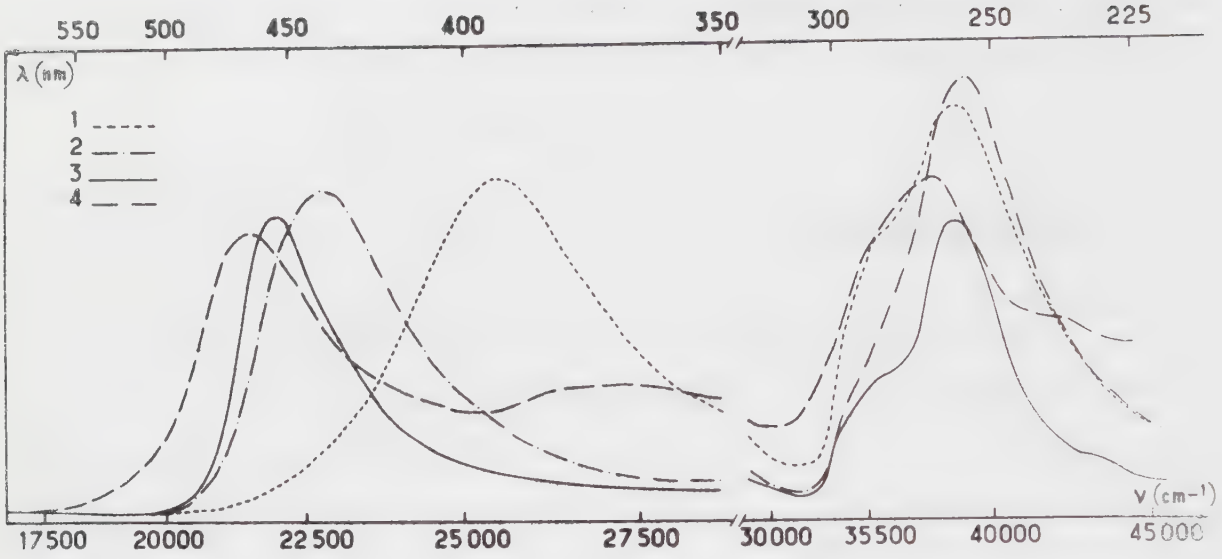


Figure III-12 : Proflavine. Absorption dans divers solvants
$c = 10^{-4}$ g/cc - température ambiante

1 - NaOH aqueux, pH ~ 11,5 2 - eau

3 - alcool 4 - chloro-2-éthanol

- Influence de l'acidité

L'évolution du spectre d'absorption pour une acidité croissante du milieu est la même quelle que soit la concentration. La figure III-13 représente les spectres pour quatre acidités différentes (la concentration étant 10^{-4} g/cc). Par analogie avec les spectres de l'orangé d'acridine et de la trypaflavine et en accord avec les résultats que nous avons trouvés dans la littérature (10), nous identifions quatre formes dont nous reportons les maximums d'absorption dans le tableau VII et les formules dans le tableau VIII.

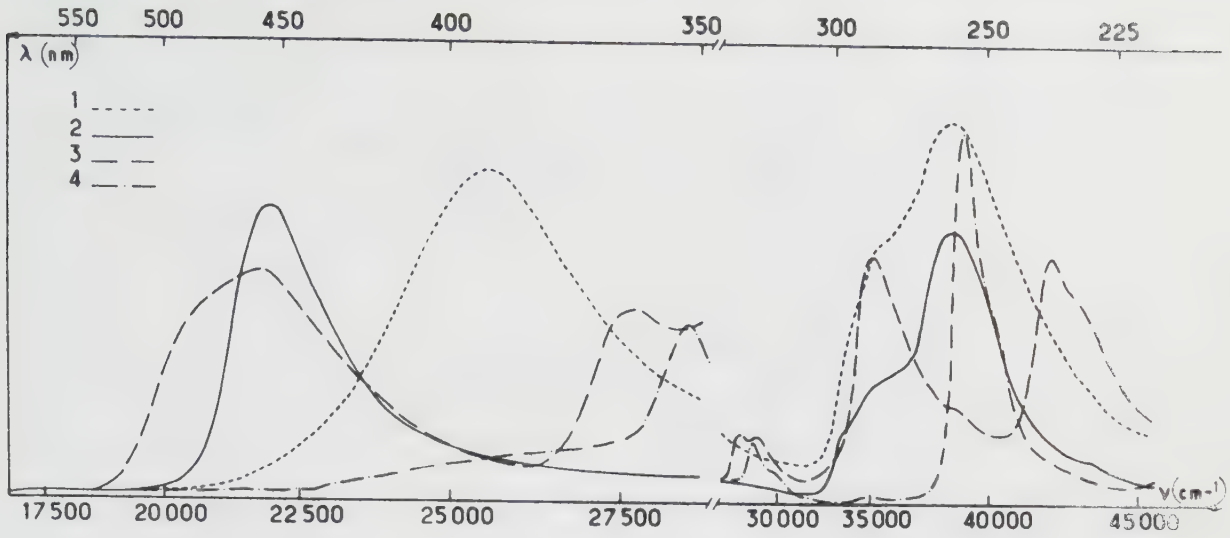


Figure III-13 : Proflavine. Absorption en solutions d'acidité variable
$c = 10^{-4}$ g/cc - température ambiante

1 - eau + NaOH, pH ~ 11,5 2 - alcool

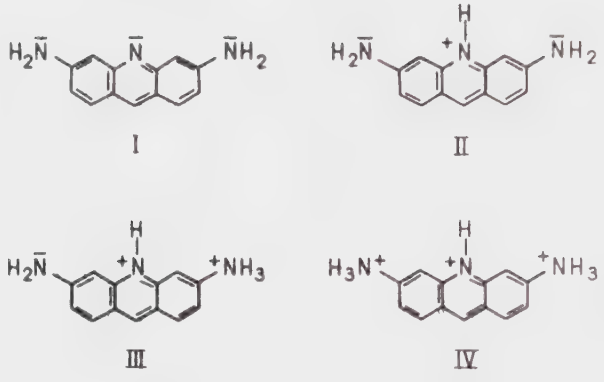
3 - Pr 30 (H_2SO_4 : 30 %, alcool : 70 %) 4 - Pr 50 (H_2SO_4 : 50 %, alcool : 50 %

Tableau VII : longueurs d'onde en nm des maximums d'absorption

Forme I	391		258	milieu sodique
Forme II	455		280-260-230	alcool
Forme III	480-460	362-345	284-237	Pr 30
Forme IV	430-400-383	352-335	256	Pr 50

Le chiffre suivant Pr indique le pourcentage en volume d'acide sulfurique dans le mélange alcool-acide sulfurique.

Tableau VIII



I II III IV

Si nous comparons les maximums d'absorption de l'orangé d'acridine et de la proflavine (tableaux III et VII), nous constatons que pour les formes I, II et III les maximums sont systématiquement déplacés vers le bleu quand on passe de l'orangé d'acridine à la proflavine. Par contre, les longueurs d'onde des maximums de la forme IV sont les mêmes pour les deux colorants ; la dernière protonation se faisant sur les atomes d'azote extracycliques, ceux-ci n'interviennent plus dans le système électronique et l'on a alors pratiquement l'absorption de l'ion acridine.

b) Solutions dans le chloro-2-éthanol : Influence de la température

La figure III-14 montre les spectres d'absorption enregistrés au cours du refroidissement d'une solution de concentration 10^{-5} g/cc (11). L'évolution de ces spectres est à rapprocher de celle que l'on observe en acidifiant une solution alcoolique tant que l'acidité reste faible. On peut donc dire que dans le chloro-2-éthanol dès la température ambiante on est en présence de deux formes ioniques au moins.

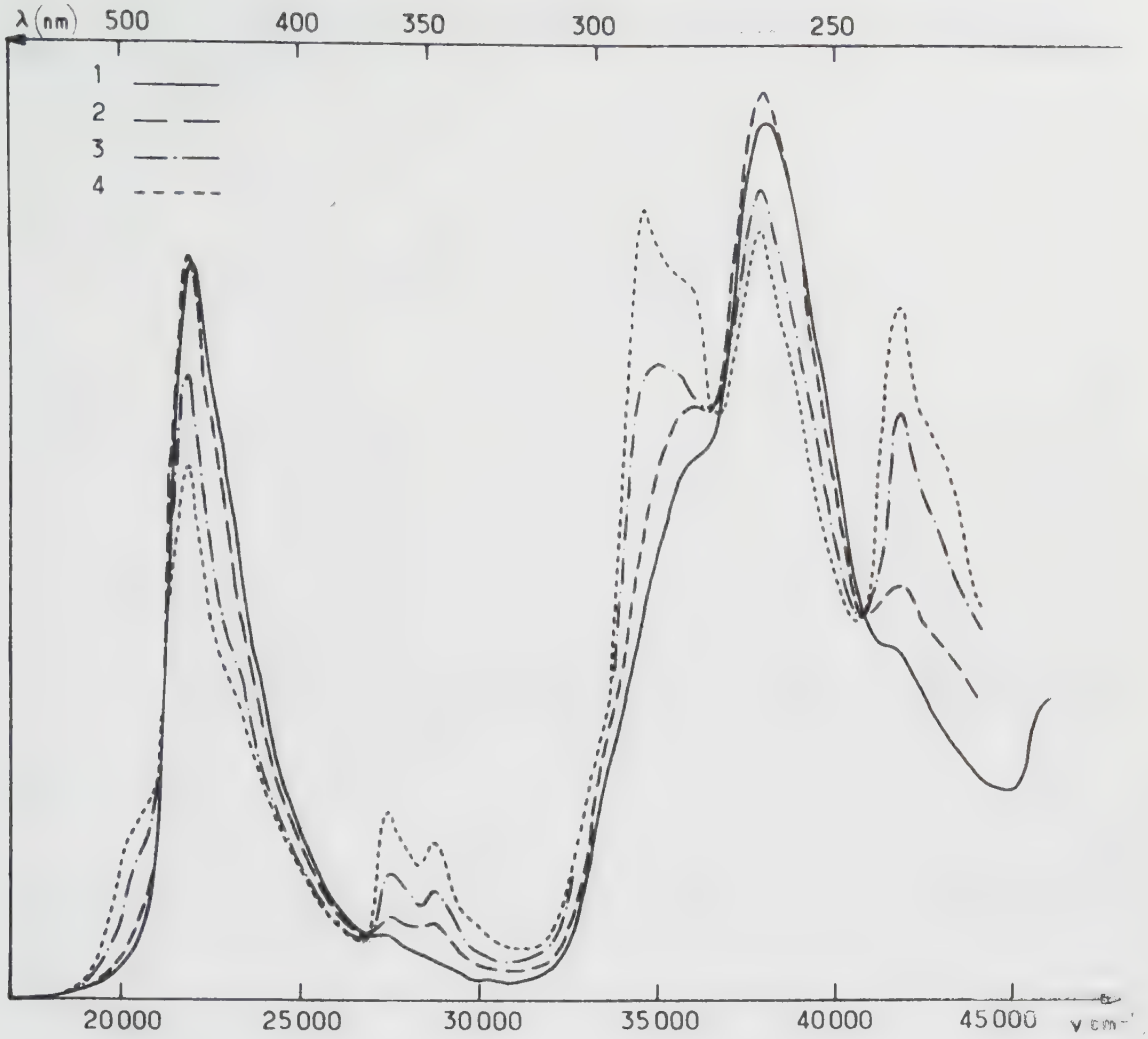


Figure III-14

Proflavine. Absorption dans le chloro-2-éthanol au cours du refroidissement. $c = 10^{-5}$ g/cc. 1 : +20°C ; 2 : -30°C ; 3 : -90°C ; 4 : -130°C

c) Solutions aqueuses : Influence de la concentration

Quand la concentration augmente, la longueur d'onde du maximum visible se déplace vers le bleu (il passe de 445 nm pour $c = 10^{-6}$ g/cc à 425 nm pour $c = 10^{-2}$ g/cc) (figure III-15) ; en même temps il

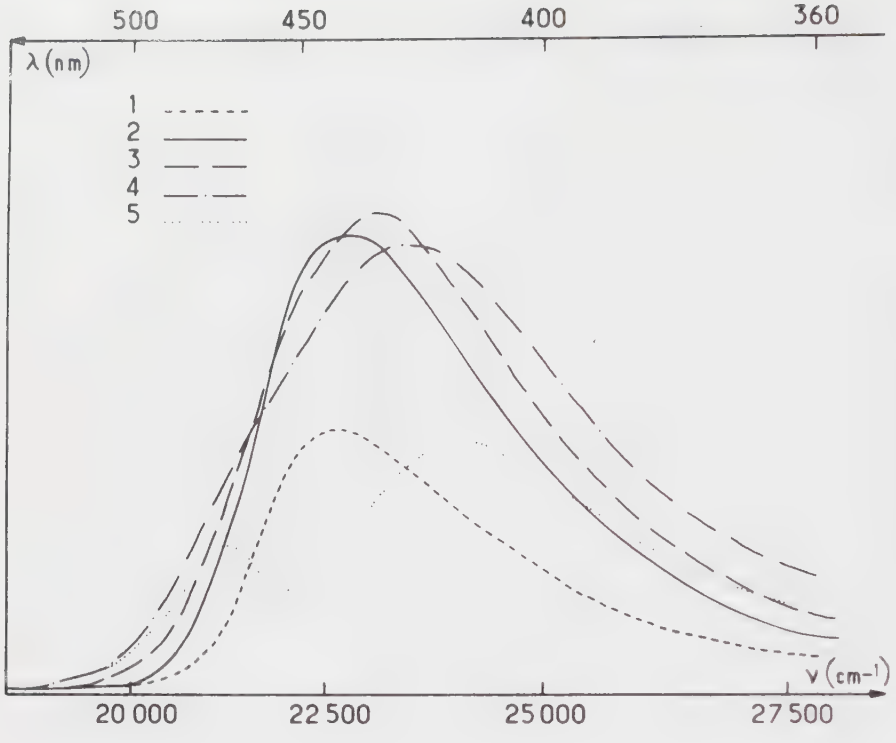


Figure III-15 : Proflavine. Absorption en solutions aqueuses de diverses concentrations. Température ambiante

1 - $c = 10^{-6}$ g/cc 2 - $c = 10^{-4}$ g/cc

3 - $c = 10^{-3}$ g/cc 4 - $c = 10^{-2}$ g/cc

5 - associat

apparaît une bande très large vers 480 nm. Dans l'ultraviolet aucune variation notable n'est observée bien que la loi de Beer-Lambert ne soit pas vérifiée dans ce domaine de concentrations.

En faisant varier l'acidité d'une solution aqueuse de concentration 10^{-4} g/cc (figure III-16), nous avons vérifié que les bandes visibles ne pouvaient être attribuées à une des formes du tableau VIII. Comme dans le cas de l'orangé d'acridine, nous pensons à une forme V ou associat en accord avec l'hypothèse d'un dimère de type excitonique. L'éclatement de la bande visible, dont le moment de transition est dirigé suivant l'axe OX de la molécule (12, 13),

indique que les axes OX des molécules constituant l'associat ne sont pas parallèles (14).

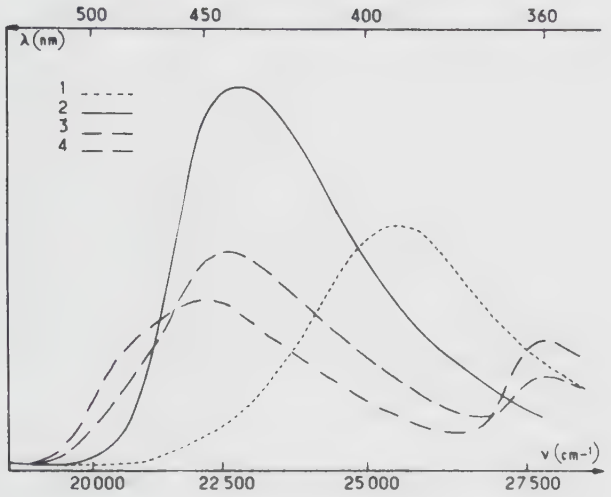


Figure III-16 : Proflavine. Absorption en solutions aqueuses d'acidité variable. $c = 10^{-4}$ g/cc. Température ambiante.

1 - eau + NaOH(10 %) 2 - eau 100 %

3 - eau + H_2SO_4 (2 %) 4 - eau + H_2SO_4 (10 %)

SPECTRE DE FLUORESCENCE ET SON SPECTRE D'EXCITATION

Les spectres ont été enregistrés uniquement en solution liquide, dans l'eau, l'alcool, le chloro-2-éthanol.

Influence de l'acidité

La figure III-17 rassemble les spectres de fluorescence les plus caractéristiques et leurs spectres d'excitation. Les maximums

de fluorescence attribués aux formes I à IV sont regroupés dans le tableau IX.

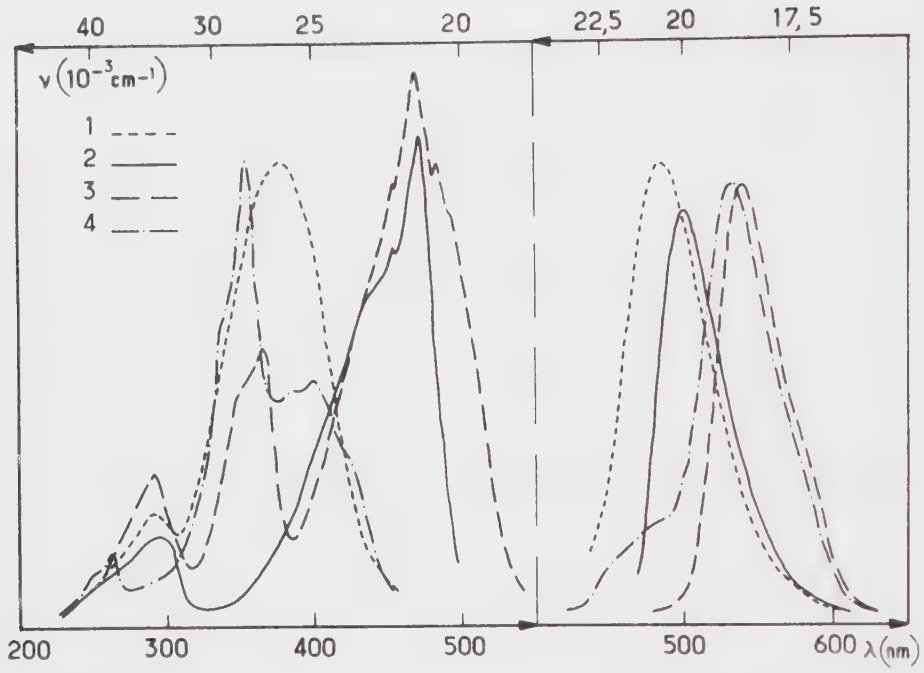


Figure III-17 : Proflavine. Fluorescence et son spectre d'excitation $c = 10^{-4}$ g/cc . Température ambiante

1 - eau + NaOH 2 - alcool

3 - Pr 30 4 - Pr 50 ($\lambda ex = 350$ nm, $\lambda em = 540$ nm)

Comme pour l'orangé d'acridine, la fluorescence de la forme I s'accompagne toujours de celle de la forme II ; le maximum 485 nm est en accord avec les données de la littérature (2).

Dans la fluorescence d'une solution Pr 50, on observe les deux maximums de la forme IV aux mêmes longueurs d'onde que les maximums de la forme IV de l'orangé d'acridine. Comme nous

Tableau IX : longueurs d'onde en nm des maximums de fluorescence

forme I	forme II	forme III	forme IV
485	500	540	450 480

l'avons déjà signalé, cette forme se comporte comme l'ion acridine. Dans cette même fluorescence on observe aussi l'émission du dication avec maximum à la longueur d'onde 540 nm ; le changement de pK entre l'état fondamental et l'état excité peut expliquer cette émission.

Nous parlerons maintenant de deux spectres reportés sur la figure III-18 et qui ne s'expliquent pas par les formes I à IV.

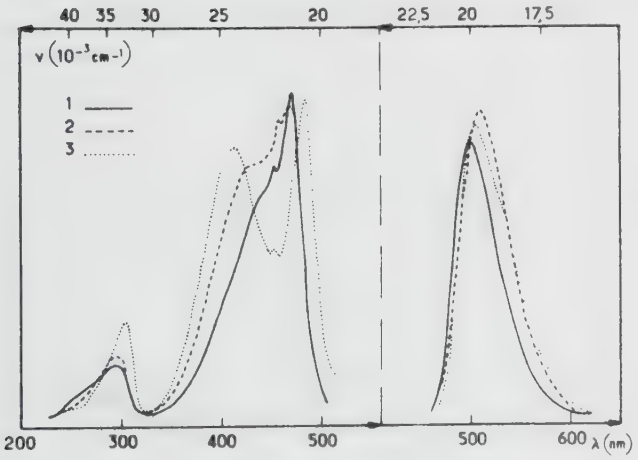


Figure III-18 : Proflavine
Fluorescence et son spectre d'excitation. $c = 10^{-4}$ g/cc
Température ambiante
1 - alcool
2 - eau ($\lambda ex = 440$ nm, $\lambda em = 510$ nm)
3 - Pr 2,5 ($\lambda ex = 420$ nm $\lambda em = 500$ nm)

En milieu aqueux où l'existence d'associats a été mise en évidence à l'état fondamental, on constate que la fluorescence est légèrement plus "rouge" que celle de la forme II, quelle que soit la longueur d'onde excitatrice. Le spectre d'excitation a un maximum

à la longueur d'onde 470 nm et un épaulement vers 425 nm plus important qu'en milieu alcoolique.

La solution Pr 2,5, dont l'émission est voisine de celle que l'on obtient dans l'eau, a un spectre d'excitation visible formé de deux maximums nettement disctincts vers 480 et 420 nm quelle que soit la longueur d'onde d'émission. La fluorescence est celle de la forme II, élargie vers les grandes longueurs d'onde. Cependant le spectre d'excitation ne montre aucune trace de dication à 360 nm, mais des bandes qui pourraient correspondre à l'associat. Pour essayer de les attribuer nous avons recherché l'influence de la température et de la concentration.

Influence de la température

La fluorescence à 77°K de la solution Pr 2,5 est celle de la forme II (figure III-19) avec maximum à 480 nm et épaulement vers 520 nm.

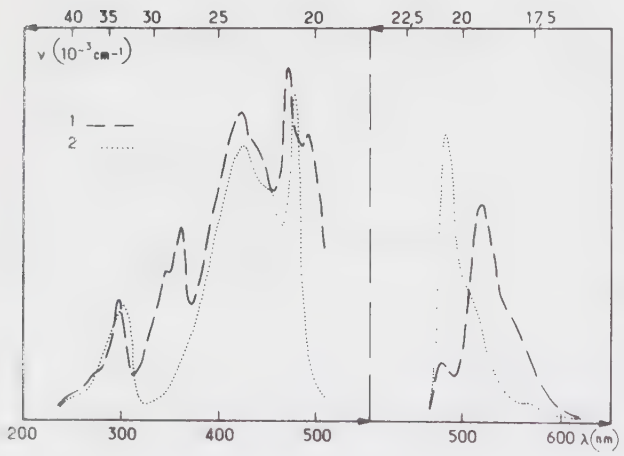


Figure III-19

Proflavine

Fluorescence et son spectre d'excitation

$c = 10^{-4}$ g/cc. 77°K

1 - Pr 10 (λex = 365 nm λem = 520 nm)

2 - Pr 2,5 (λex = 420 nm λem = 530 nm)

Pour la solution un peu plus acide Pr 10 on obtient la fluorescence des formes II et III et l'on favorise l'émission de l'une ou l'autre de ces deux formes en choisissant la longueur d'onde excitatrice. Le spectre d'excitation par contre montre les bandes de la forme III avec maximums aux longueurs d'onde 360 et 490 nm et toujours les bandes précédemment obtenues avec la solution Pr 2, 5. Nous en déduisons l'existence d'une forme qui absorbe à 425 et 480 nm et fluoresce avec un maximum à peu près à la même longueur d'onde que le monocation ; nous l'appellerons forme V .

Influence de la concentration

Lorsque la concentration d'une solution alcoolique augmente de 10^{-4} à 10^{-3} g/cc (figure III-20), l'évolution des spectres est en faveur d'une forme V : l'émission de fluorescence s'élargit vers les grandes longueurs d'onde en même temps qu'il apparaît dans les spectres d'excitation deux maximums encadrant celui du monocation.

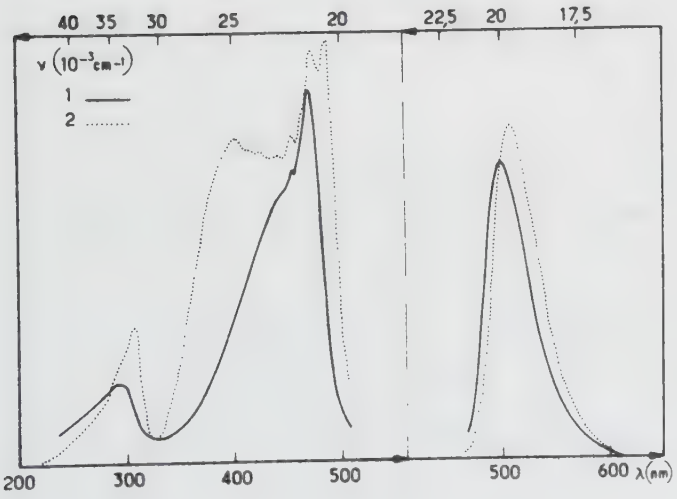


Figure III-20 : Proflavine Fluorescence et son spectre d'excitation dans l'alcool.
Température ambiante
1 - c = 10^{-4} g/cc
2 - c = 10^{-3} g/cc

D'après tout ce qui précède, il semblerait que dans nos spectres d'excitation nous mettions en évidence une nouvelle sorte de molécule, dans un domaine limité d'acidité. Nous avons donc fait une étude comparable avec le chloro-2-éthanol qui se comporte au cours du refroidissement, nous l'avons déjà vu à propos de l'absorption, comme un solvant d'acidité croissante.

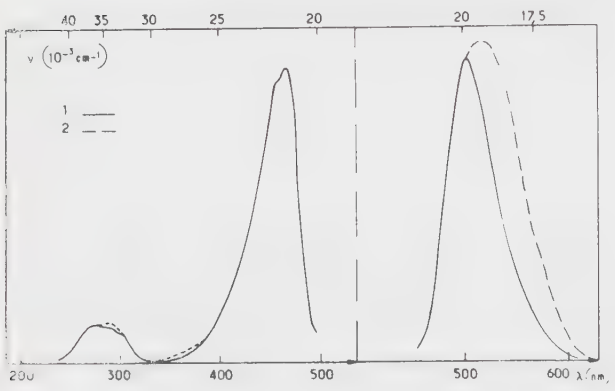


Figure III-21 : Proflavine
Fluorescence et son spectre d'excitation dans le chloro-2-éthanol. $c = 10^{-5}$ g/cc
Température ambiante
1 - λex = 420 nm
λem = 500 nm
2 - λex = 350 nm
λem = 540 nm

Les figures III-21 et III-22 montrent la fluorescence et son spectre d'excitation à la température ambiante et à 77°K pour la concentration 10^{-5} g/cc. Ces spectres s'expliquent bien par la coexistence des formes II et III mais sans intervention de la forme V .

Pour une solution de concentration supérieure 10^{-4} g/cc (figure III-23) on observe dès la température ordinaire un équilibre entre les formes III et V. Le refroidissement de cette solution à 77°K entraîne à la fois une augmentation de l'acidité et une augmentation de la concentration par contraction de la solution. On constate alors que la forme V disparaît au profit de la forme III.

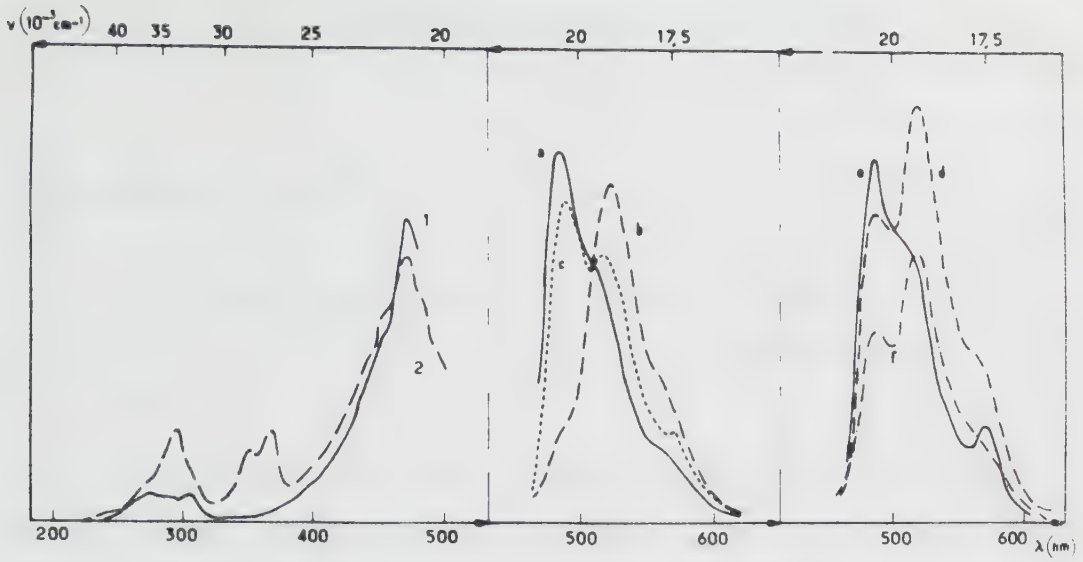


Figure III-22 : Proflavine. Fluorescence et son spectre d'excitation dans le chloro-2-éthanol. $c = 10^{-5}$ g/cc . 77°K

1 - λ em = 490 nm — 2 - λ em = 540 nm

a - λ ex = 460 nm — b = λ ex = 360 nm

c - λ ex = 310 nm — d = λex = 290 nm

e - λ ex = 270 nm — f = λex = 240 nm

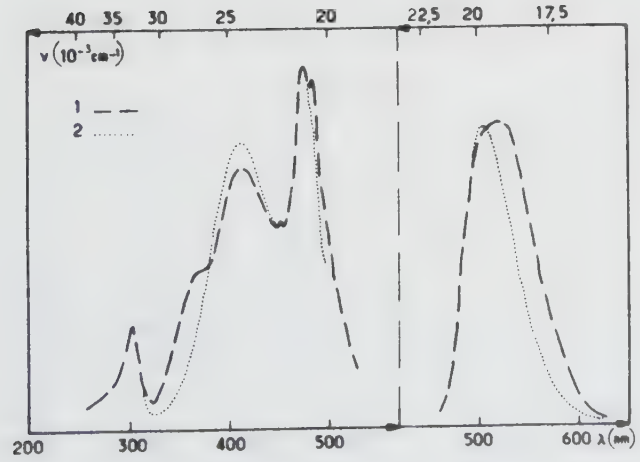


Figure III-23 : Proflavine Fluorescence et son spectre d'excitation dans le chloro-2-éthanol

$c = 10^{-4}$ g/cc

Température ambiante

1 - λ ex = 350 nm
λ em = 580 nm

2 - λ ex = 420 nm
λem = 500 nm

Ainsi, comme pour l'orangé d'acridine, la forme V ou associat existe seulement dans un domaine restreint d'acidité et le refroidissement d'une solution n'est pas toujours le meilleur moyen de favoriser sa formation.

Il est vraisemblable que l'associat est un dimère formé de deux monocations car il existe à des concentrations relativement faibles et dans un domaine d'acidité intermédiaire entre celui du monocation et celui du dication.

Comme nous l'avons remarqué dans la Revue Bibliographique de très nombreuses études ont été faites en employant la longueur d'onde excitatrice 365 nm. Le choix de cette longueur d'onde était commandé par deux impératifs : d'une part l'utilisation d'une raie intense des lampes à vapeur de mercure et d'autre part une excitation de longueur d'onde suffisamment différente de celles de la fluorescence pour pouvoir éliminer la diffusion de l'excitation au moyen de filtres convenables. Malheureusement, comme nos résultats l'indiquent, cette longueur d'onde permet d'exciter plusieurs formes de la proflavine. En particulier elle excite les formes I et III préférentiellement au monocation que l'on souhaitait exciter. Ceci permet de comprendre les déplacements des spectres de fluorescence soit vers le rouge soit vers le bleu, observés par de nombreux auteurs ; il faut alors faire intervenir l'acidité du milieu et tenir compte du pK^*.

SPECTRE DE PHOSPHORESCENCE ET SON SPECTRE D'EXCITATION

Influence de l'acidité

En solution alcoolique l'émission de phosphorescence est responsable d'un maximum de longueur d'onde 575 nm avec un épaulement à 620 nm environ.

En milieu fortement basique l'émission T → S se caractérise par une bande avec maximum de longueur d'onde 615 nm et épaulement vers les grandes longueurs d'onde (675 nm environ).

En milieu franchement acide (H_2SO_4 : 20 %, alcool : 80 %) la répartition spectrale de la phosphorescence dépend de la longueur d'onde excitatrice. On note la superposition de deux émissions de longueur d'onde 630 et 580 nm que nous pouvons attribuer à deux formes ioniques différentes.

Ainsi nous mettons en évidence l'existence de la phosphorescence des quatre formes moléculaire ou ioniques de la proflavine dont les maximums d'émission sont reportés dans le tableau X .

Tableau X : longueurs d'onde en nm des maximums de phosphorescence

forme I	forme II	forme III	forme IV
615 ~ 675 épaulement	575	630	580

A l'exception des solutions alcooliques nous avons constaté que l'émission de phosphorescence et son spectre d'excitation varient légèrement, la première avec la longueur d'onde excitatrice et le dernier avec la longueur d'onde d'émission. Ceci indique que l'équilibre entre les différentes formes de molécules ou ions présents dans une solution n'est pas complètement atteint pendant la durée de vie dans l'état triplet dans nos solvants rigidifiés à 77°K .

Influence de la concentration

Pour une solution dans le chloro-2-éthanol de concentration 10^{-5} g/cc, nous reportons le spectre de phosphorescence de la proflavine et son spectre d'excitation sur la figure III-24. Ces spectres sont respectivement indépendants de la longueur d'onde d'excitation et de la longueur d'onde d'émission.

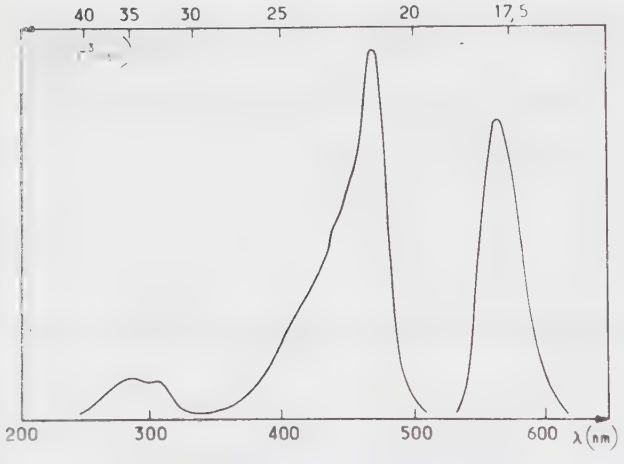


Figure III-24 : Proflavine Phosphorescence et son spectre d'excitation dans le chloro-2-éthanol
$c = 10^{-5}$ g/cc . 77°K
λex = 460 nm
λem = 570 nm

Pour une concentration supérieure 10^{-4} g/cc, le spectre d'excitation dépend de la longueur d'onde d'émission (figure III-25). Pour le maximum d'émission 580 nm on trouve le spectre d'excitation de la forme V , tandis que l'on obtient celui de la forme II

pour les plus courtes longueurs d'onde de l'émission. Ainsi les phosphorescences des formes II et V sont presque confondues.

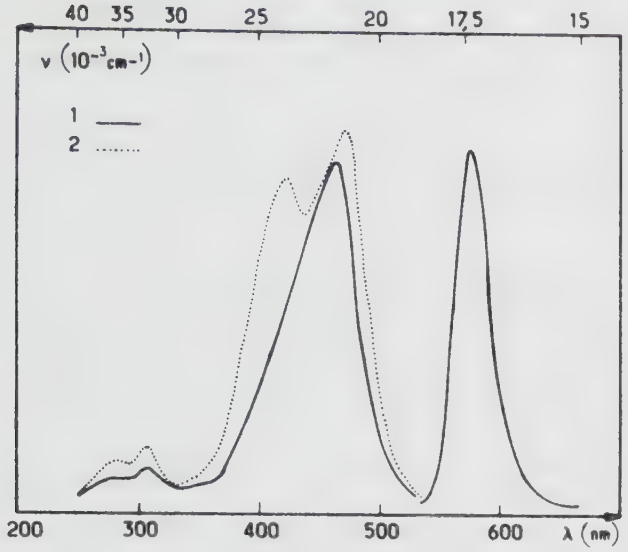


Figure III-25 : Proflavine Phosphorescence et son spectre d'excitation dans le chloro-2-éthanol
$c = 10^{-4}$ g/cc . 77°K

1 - λem = 560 nm

2 - λ em = 580 nm

La forme V se caractérise par :

- des spectres de fluorescence et de phosphorescence légèrement plus "rouges" que les spectres du monocation

- des spectres d'excitation que l'on peut relier au spectre d'absorption enregistré dans l'eau

ce qui est en faveur de l'existence d'un associat stable dans l'état fondamental, dans l'état singulet excité et dans l'état triplet.

BIBLIOGRAPHIE DE LA PROFLAVINE

1 - F. MILLICH et G. OSTER. - J. Amer. Chem. Soc., 81, 1959, 1357.

2 - G.R. HAUGEN et W.H. MELHUISH. - Trans. Faraday Soc., 60, 1964, 386.

3 - H.J. LI et D.M. CROTHERS. - Biopolymers, 8, 1969, 217.

4 - C.A. PARKER et C.G. HATCHARD. - J. Phys. Chem. 66, 1962, 2506.

5 - J. GRZYWACZ. - Nature, 213, 1967, 385.

6 - J.B. BIRKS et J. GRZYWACZ. - Chem. Phys. Letters, 1, 1967, 187.

7 - C.A. PARKER et C.G. HATCHARD. - J. Mol. Spectry,, 14, 1964, 311.

8 - J. POSTHUMA et W. BERENDS. - Biochim. Biophys. Acta, 112, 1966, 422.

9 - Y. KUBOTA et M. MIURA. - Bull. Chem. Soc. Jap., 42, 1969 2763.

10 - V. ZANKER. - U.V. Atlas, Butterworths, Londres, 1966.

11 - N. MALIQUE. - Thèse de Troisième Cycle, Bordeaux, 1970.
N. MALIQUE et G. NOUCHI. - C.R. Acad. Sc., 270, 1970, 1559

12 - J.C. RAYEZ. - Thèse d'Etat à paraître.

13 - E. LAFFITTE. - Thèse, Paris, 1954.
J. Phys., 15, 1954, 37 S.

14 - M. KASHA, H.R. RAWLS et M. ASHRAF El-BAYOUMI. - VIII^{e} Congrès Européen de Spectroscopie Moléculaire, Copenhague, 1965.

TRYPAFLAVINE ET JAUNE D'ACRIDINE

La trypaflavine est un colorant très voisin de la proflavine puisque les groupements aminés sont les mêmes. L'atome d'hydrogène lié à l'atome d'azote intracyclique de la proflavine est remplacé dans la trypaflavine par un groupe méthylé.

Quant au jaune d'acridine, c'est une proflavine substituée par deux groupes méthylés en position ortho des amines (tableau I). On n'attendrait aucune modification spectrale importante par rapport aux colorants déjà vus. Cependant des résultats de polarisation anormaux (1) nous ont amené à étudier partiellement le jaune d'acridine.

A - REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

Les études spectrales du jaune d'acridine trouvées dans la littérature n'ayant pas pu nous servir à mettre en évidence les différentes formes de la molécule, nous parlerons donc seulement de la trypaflavine.

Le spectre de fluorescence de la trypaflavine semble très sensible au solvant et à la longueur d'onde excitatrice. SZALAY et TOMBACZ (2) (pour la concentration assez faible 5.10^{-4} M/l) observent un déplacement de la fluorescence vers les grandes longueurs

d'onde sans changement dans le spectre d'absorption lorsqu'ils font varier les pourcentages de glycérol et d'éthanol de leur solvant. D'autres auteurs (3) ont aussi observé un déplacement du maximum de fluorescence vers les grandes longueurs d'onde (de 470 à 510 nm) lorsque la longueur d'onde excitatrice augmente (de 365 nm à 436 nm).

De plus, l'intensité de la fluorescence de la trypaflavine diminue fortement lorsque la concentration augmente ; ceci peut être attribué à une réabsorption (4, 5) ou à un transfert d'énergie vers des "dimères" non fluorescents (4).

La trypaflavine montre une anomalie : son spectre de fluorescence lente n'est pas identique à son spectre de fluorescence. La fluorescence lente est décalée vers les grandes longueurs d'onde de 8 à 12 nm suivant la longueur d'onde excitatrice, même pour les faibles concentrations de l'ordre de 10^{-5} M/l (6).

Si la fluorescence normale ne présente qu'une bande, la fluorescence lente peut en présenter une (7) ou deux (7, 8).

ARISTOV (8), obtenant deux bandes d'émission pour une concentration faible (10^{-5} g/g) mais avec une excitation anti-Stokes, envisage l'existence d'un autre centre luminescent qui pourraît être formé par une interaction solvant-colorant.

SATO et ses collaborateurs (7) observent une seule bande de fluorescence lente avec maximum à la longueur d'onde 485 nm pour de faibles concentrations (5.10^{-5} M/l) dans des films de PVA (polyvinyl alcool). Cependant pour des concentrations plus élevées ces auteurs observent un deuxième maximum, vers 525 nm et pour des concentrations de l'ordre de 10^{-2} M/l ils constatent la disparition du premier maximum. Comme ils n'observent aucun changement du spectre d'absorption avec la variation de la concentration, ils pensent obtenir à la longueur d'onde 525 nm la fluorescence lente de l'excimère.

La décroissance de la durée de vie de la phosphorescence n'est pas exponentielle mais peut être décomposée en deux exponentielles, montrant l'existence de deux états triplets (8, 9, 10, 11). De nombreuses polémiques se sont élevées pour savoir si la trypaflavine (et par là de nombreux autres colorants) avait un ou deux états triplets.

Plusieurs auteurs ont observé une fluorescence de longue durée à basse température ou à la température ambiante et font intervenir des radicaux (12, 13) ou une photoionisation qui ne se produit pas lorsqu'on excite par la première bande d'absorption (14 et ses réf.).

B - PRESENT TRAVAIL

SPECTRE D'ABSORPTION

Trypaflavine

- Solutions alcooliques : Influence de l'acidité

Le spectre d'absorption d'une solution alcoolique de trypaflavine a la même allure que celui de la proflavine aussi bien dans le visible que dans l'ultraviolet, les maximums étant légèrement décalés vers le rouge.

Sous l'action d'une acidité croissante nous retrouvons les formes II, III et IV (cf. tableaux IV et VIII). La similitude des spectres d'absorption des formes II de la proflavine et de la trypaflavine, ainsi que l'absence de forme I pour ce dernier colorant, indiquent que la première protonation de la proflavine se fait sur l'atome d'azote intracyclique.

Pour des solutions de concentrations 10^{-4} g/cc et d'acidités assez faibles on observe des points isobestiques qui sont caractéristiques d'un équilibre entre les deux formes II et III ; on n'a donc pas d'associat à cette concentration.

- Solutions dans le plexiglass : Influence de la concentration

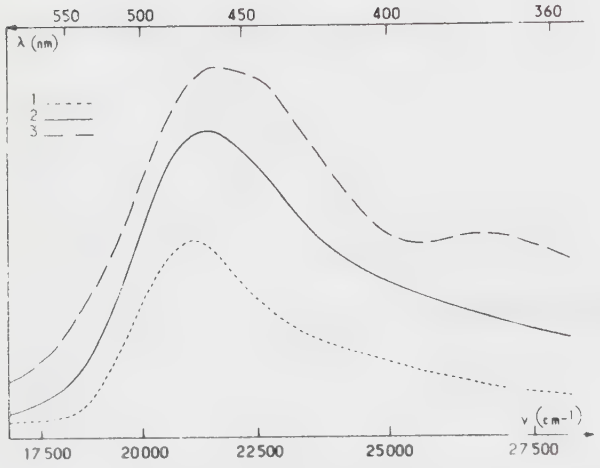


Figure III-26 : Trypaflavine
Absorption dans le plexiglass
Température ambiante

1 - $c = 0,5.10^{-4}$ g/cc
2 - $c = 0,5.10^{-3}$ g/cc
3 - $c = 0,5.10^{-2}$ g/cc

Les spectres d'absorption pour différentes concentrations sont reportés sur la figure III-26. Lorsque la concentration augmente nous constatons l'apparition à la fois d'un associat (dont l'absorption présente un maximum vers 440 nm) et du dication (qui absorbe vers 370 nm environ). La faible absorption que l'on décèle vers 525 nm est vraisemblablement due à la fois à l'associat et au dication.

Jaune d'acridine

Par analogie avec les études précédentes, nous admettrons que ce colorant existe sous les formes moléculaire ou ioniques I à IV. Il devrait aussi pouvoir s'associer, les groupements méthylés en position ortho des amines ne devant pas apporter de gêne stérique.

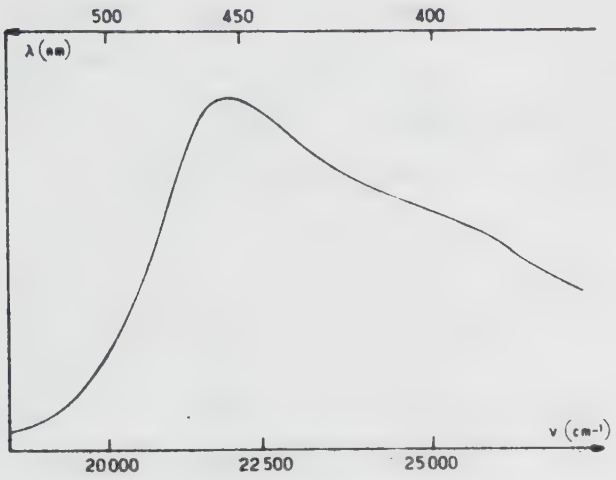


Figure III-27
Jaune d'acridine
Absorption dans le plexiglass
$c = 0,2.10^{-3}$ g/cc
Température ambiante

Sur la figure III-27 nous reportons le spectre d'absorption visible : ce spectre, très massif, montre un maximum à la longueur d'onde 455 nm et un épaulement vers 386 nm dont l'intensité relative augmente légèrement avec la concentration.

Une étude au cours du refroidissement d'une solution dans le chloro-2-éthanol (15) a montré l'existence de monocation et de dication comme on pouvait s'y attendre mais avec une proportion de dication plus forte que pour la proflavine et la trypaflavine. Dans le plexiglass nous constatons aussi une proportion plus importante de dication sans savoir s'il existe une auto-association.

SPECTRE DE FLUORESCENCE

Trypaflavine

L'émission totale d'un échantillon de plexiglass de concentration $0,5.10^{-3}$ g/cc est reportée sur la figure III-28 ; la courbe 2 a été enregistrée à basse température, la courbe 3 à la température ambiante. Cette émission présente quatre maximums à 480, 540, 600 et 640 nm environ. La phosphorescence, toujours présente à la

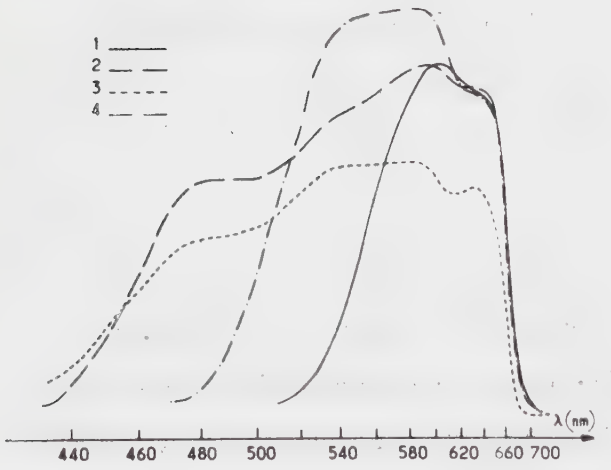


Figure III-28 Trypaflavine dans le plexiglass
$c = 0,5.10^{-3}$ g/cc
$\lambda ex \sim 415$ nm

1 - Phosphorescence à 90°K
2 - Emission totale à 90°K
3 - Emission totale à 20°C
4 - Emission retardée à 20°C

température ordinaire dans le plexiglass, est responsable des deux maximums de plus grande longueur d'onde comme le montre la courbe 1. Seuls les maximums à 480 et 540 nm sont dus à la fluorescence ; ils se situent à des longueurs d'onde analogues à celles que nous avons observées pour la proflavine et que nous avons attribuées à la fluorescence des formes II et III.

Lorsque la concentration augmente (figure III-29), l'intensité de la bande à 480 nm augmente par rapport à celle de la bande à 540 nm. Comme pour la proflavine, nous admettons que la première bande est due à l'émission de l'associat.

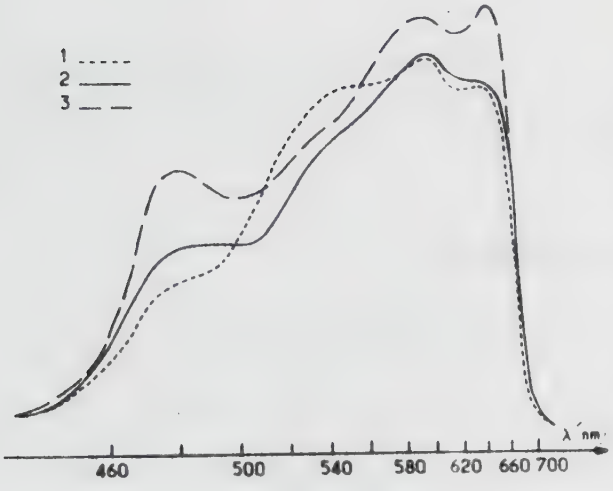


Figure III-29 Trypaflavine
Emission totale dans le plexiglass. Basse température
$\lambda ex \sim 415$ nm

1 - $c = 0,5.10^{-4}$ g/cc

2 - $c = 0,5.10^{-3}$ g/cc

3 - $c = 0,5.10^{-2}$ g/cc

Jaune d'acridine

L'émission totale à la température ambiante est enregistrée sur les figures III-30 et III-31. La première traduit l'influence de la concentration, la deuxième l'influence de la longueur d'onde excitatrice.

La phosphorescence est responsable des deux maximums de plus grande longueur d'onde.

Les maximums à 480 et 540 nm sont dus respectivement au monocation et au dication.

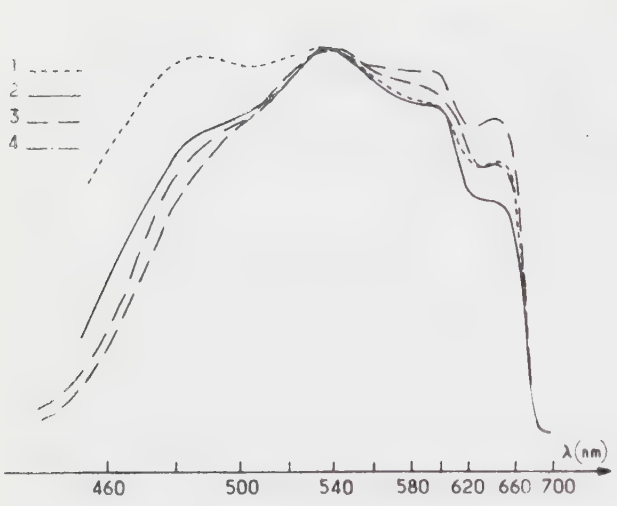


Figure III-30

λ ex ~ 415 nm

1 - c = 0,2. 10^{-5} g/cc

2 - c = 0,2. 10^{-4} g/cc

3 - c = 0,2. 10^{-3} g/cc

4 - c = 0,2. 10^{-2} g/cc

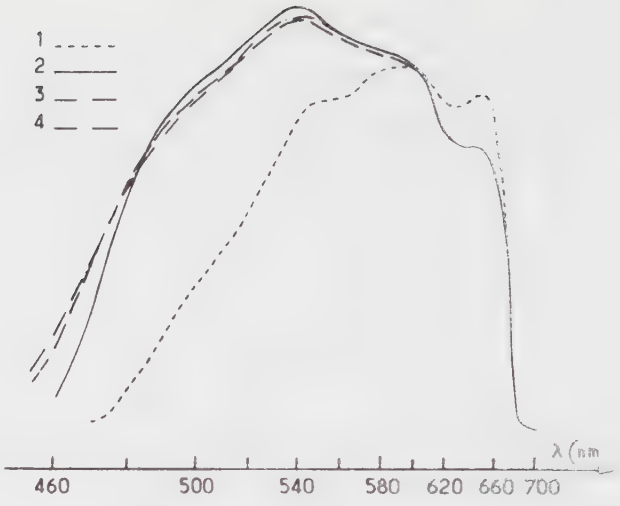


Figure III-31

c = 0,2. 10^{-3} g/cc

1 - λ ex ~ 490 nm

2 - λ ex ~ 475 nm

3 - λ ex ~ 436 nm

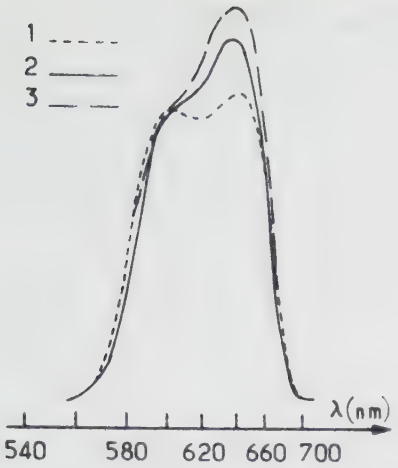
4 - λ ex ~ 415 nm

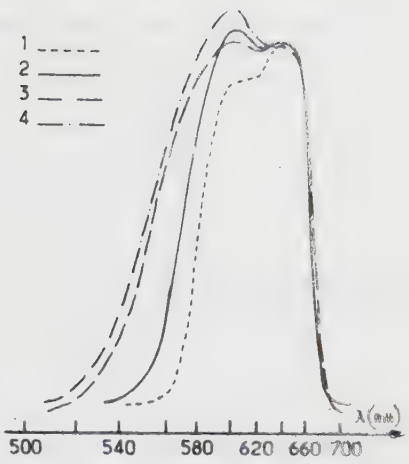
Jaune d'acridine - Emission totale dans le plexiglass 20°C

SPECTRE DE PHOSPHORESCENCE

Trypaflavine

Pour essayer d'attribuer les deux maximums de phosphorescence à 600 et 640 nm, nous avons recherché l'influence de la concentration (figure III-32) et celle de la longueur d'onde excitatrice (figure III-33).





Trypaflavine - Phosphorescence dans le plexiglass . 90°K

Figure III-32 : $\lambda ex \sim 490$ nm

1 - $c = 0,5.10^{-4}$ g/cc
2 - $c = 0,5.10^{-3}$ g/cc
3 - $c = 0,5.10^{-2}$ g/cc

Figure III-33 : $c = 0,5.10^{-5}$ g/cc

1 - $\lambda ex \sim 490$ nm
2 - $\lambda ex \sim 475$ nm
3 - $\lambda ex \sim 436$ nm
4 - $\lambda ex \sim 415$ nm

L'augmentation de la concentration se manifeste par une forte diminution de l'intensité du maximum de longueur d'onde 600 nm.

La variation de la longueur d'onde excitatrice entraîne une forte évolution du spectre de phosphorescence ce qui indique l'émission de plusieurs centres luminescents.

Pour l'orangé d'acridine nous avons trouvé similairement deux bandes de phosphorescence. Nous avons vu que la bande de plus courte longueur d'onde est attribuable à la forme II, celle de plus grande longueur d'onde aux formes I ou III. La forme I, ou moléculaire, n'existe pas dans la trypaflavine puisque l'atome d'azote intracyclique est lié à un groupement CH_3 . Comme d'autre part les spectres d'émission de la phosphorescence ainsi que les spectres de polarisation (que nous verrons plus loin) sont analogues pour tous les colorants de

l'acridine, nous concluons que l'émission à 640 nm est due à la forme III.

Jaune d'acridine

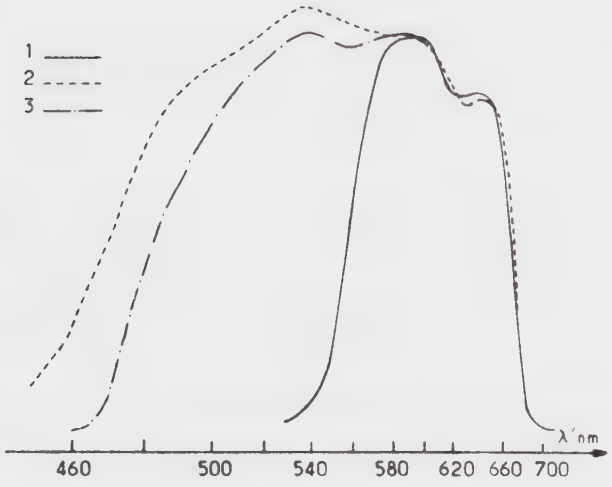
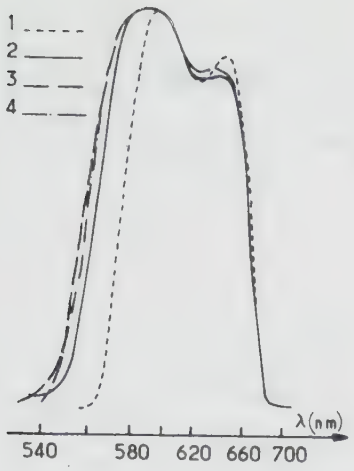
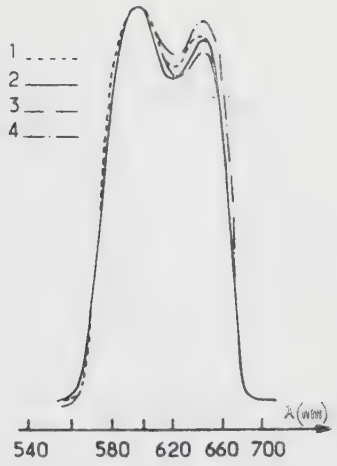


Figure III-34 Jaune d'acridine dans le plexiglass
$c = 0,2.10^{-3}$ g/cc
$\lambda ex \sim 436$ nm
1 - Phosphorescence à 90°K
2 - Emission totale à 20°C
3 - Emission retardée à 20°C

La phosphorescence du jaune d'acridine montre deux maximums comme celle de tous les colorants que nous venons de voir : ces deux maximums correspondent aux longueurs d'onde 585 et 640 nm (figure III-34). L'intensité de ces bandes est plus sensible à la variation de la longueur d'onde excitatrice (figure III-35) qu'à la variation de la concentration (figure III-36). On peut admettre que dans nos échantillons de plexiglass nous obtenons la phosphorescence des formes II et III.





Jaune d'acridine - Phosphorescence dans le plexiglass . 90°K

Figure III-35

$c = 0,2.10^{-3}$ g/cc

1 - $\lambda ex \sim 490$ nm

2 - $\lambda ex \sim 475$ nm

3 - $\lambda ex \sim 436$ nm

4 - $\lambda ex \sim 415$ nm

Figure III-36

$\lambda ex \sim 490$ nm

1 - $c = 0,2.10^{-5}$ g/cc

2 - $c = 0,2.10^{-4}$ g/cc

3 - $c = 0,2.10^{-3}$ g/cc

4 - $c = 0,2.10^{-2}$ g/cc

SPECTRE DE FLUORESCENCE LENTE

Trypaflavine

Quelle que soit la concentration ou la longueur d'onde excitatrice (figure III-37) seul le maximum à 540 nm est attribuable à la fluorescence lente. L'absence d'un maximum de fluorescence lente à 480 nm peut s'interpréter avec BIRKS (16) par un rendement quantique plus faible pour la forme II que pour la forme III ou par une durée de vie très courte.

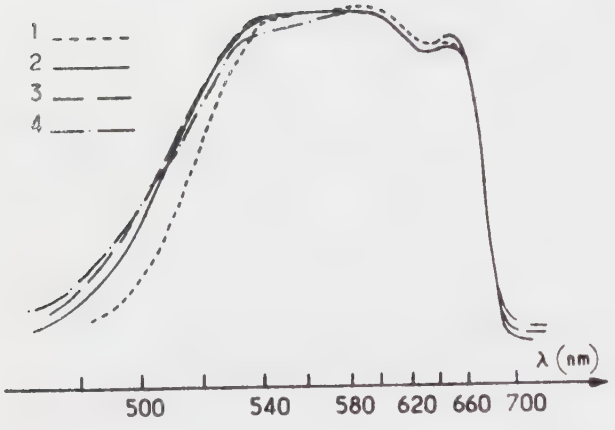


Figure III-37. Trypaflavine
Emission retardée dans le plexiglass. 20°C

$c = 0,5.10^{-3}$ g/cc

1 - $\lambda ex \sim 490$ nm

2 - $\lambda ex \sim 475$ nm

3 - $\lambda ex \sim 436$ nm

4 - $\lambda ex \sim 415$ nm

Jaune d'acridine

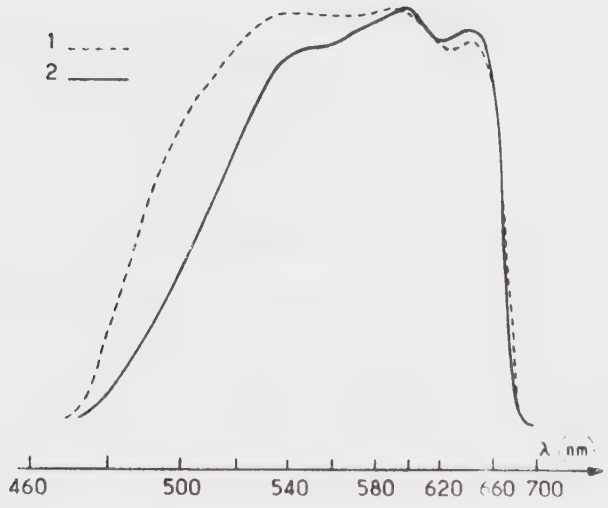


Figure III-38
Jaune d'acridine
Emission retardée dans le plexiglass. 20°C

$\lambda ex \sim 490$ nm

1 - $c = 0,2.10^{-3}$ g/cc

2 - $c = 0,2.10^{-2}$ g/cc

Les formes II et III du jaune d'acridine montrent une émission de fluorescence lente (figure III-34, courbe 3) qui est pratiquement indépendante de la longueur d'onde excitatrice. L'émission du monocation (forme II) semble décroître quand la concentration augmente (figure III-38) indiquant l'existence d'associats en accord avec la forte extinction des émissions que nous constatons pour l'échantillon le plus concentré.

BIBLIOGRAPHIE DE LA TRYFLAVINE ET DU JAUNE D'ACRIDINE

1 - V.A. PILIPOVITCH. - Opt. Spectry., 10, 1961, 104.

2 - L. SZALAY et E. TOMBACZ. - Acta Phys. Acad. Sc. Hungar, 16, 1964, 367.

3 - A. KAWSKI, S. KORENDO, M. KOSMOL, E. KUTEN et H. WARDZINSKI. - Acta Phys. Pol., 30, 1966, 141.

4 - B. Ya. SVESHNIKOV, V.I. SHIROKOV et L.A. LIMAREVA. - Bull. Acad. Sc. URSS, 27, 1963, 548.

5 - J. KISHORE, M.K. MACHWE, K.G. KRISHNAN et K.D. CHANDHURI. - Ind. J. Phys., 36, 1962, 415.

6 - H. WARDZINSKI. - Acta Phys. Pol., 32, 1967, 85.

7 - M. SATO, T. AZUMI et H. AZUMI. - Bull. Chem. Soc. Jap., 39, 1966, 857 et 40, 1967, 1031.

8 - A.V. ARISTOV. - Opt. Spectry., 15, 1963, 153.

9 - M. FRACKOWIAK et H. WALERYS. - Acta Phys. Pol., 19, 1960, 199.

10 - G.M. KISLIAK. - Opt. Spectry., 6, 1959, 144.

11 - P. PRINGSHEIM. - Fluorescence and Phosphorescence 1949.

12 - W. PRUTZ et K. SOMMERMEYER. - Nature, 212, 1966, 1043.

13 - O.D. DMITRIEVSKII et A.N. TERENIN. - Opt. Spectry, 24, 1968, 557.

14 - E.C. LIM, C.P. LAZZARA, M.Y. YANG et G.W. SWENSON. - J. Chem. Phys., 43, 1965, 970.

E.C. LIM et G.W. SWENSON. - J. Chem. Phys., 36, 1962, 118.

M. EWALD. - Thèse d'Etat, Orsay, 1972.

M. EWALD et G. DUROCHER. - Chem. Phys. Letters, 8, 1971, 479.

15 - N. MALIQUE. - Thèse de Troisième Cycle, Bordeaux, 1970.

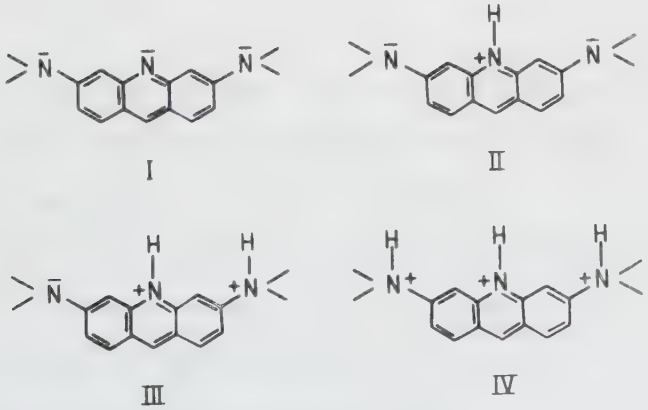
16 - J. B. BIRKS. - Photophysics of Aromatic Molecules, 1970.

RESUME DES COLORANTS DE L'ACRIDINE

Les quatre colorants orangé d'acridine, proflavine, trypaflavine et jaune d'acridine ont des comportements très semblables. Chacun existe sous plusieurs formes ioniques ou moléculaire schématisées dans le tableau XI et que l'on met en évidence par des variations d'acidité du solvant. La forme I n'existe pas pour la trypaflavine qui est toujours méthylée. Nous avons vu que la première protonation se faisait sur l'atome d'azote intracyclique. Les suivantes se font sur les groupes auxochromes, puisque l'on obtient finalement pour la forme IV, forme la plus acide, un spectre d'absorption très voisin de celui de l'ion acridine et non de l'acridane.

Chaque forme ionique ou moléculaire donne une émission de fluorescence et de phosphorescence qui lui est propre.

Tableau XI



Un associat, formé de deux monocations, émet en fluorescence et en phosphorescence. Il se manifeste dans un domaine restreint d'acidité, le refroidissement n'étant pas toujours le meilleur moyen de détecter sa formation.

Nous avons vu que le changement de la constante d'équilibre entre l'état fondamental et l'état excité peut expliquer nos spectres. Les colorants de l'acridine présentent une caractéristique singulière concernant l'équilibre entre la forme neutre (I) et le monocation (II) : le pK dans l'état triplet est inférieur au pK dans l'état fondamental et au pK dans l'état singulet excité.

Les spectres d'excitation de la fluorescence dépendent de la longueur d'onde d'émission ce qui indique que, même dans les solvants liquides à la température ordinaire, les équilibres dans l'état S^* ne sont pas atteints pendant la durée de vie dans cet état (ou que la solution ne contient pas assez d'ions H^+). A basse température, où l'on peut attendre une augmentation de la durée de vie, on aboutit à la même conclusion.

Les spectres d'excitation de la phosphorescence dépendent beaucoup moins de la longueur d'onde d'émission que les spectres d'excitation de la fluorescence. Ils indiquent ainsi que l'équilibre est presque atteint pendant la durée de vie de la molécule dans l'état triplet.

Avec les échantillons de colorants dans le plexiglass nous avons constaté que le spectre de phosphorescence était légèrement sensible à la longueur d'onde excitatrice. Ceci indique que là aussi l'équilibre n'est pas complètement atteint. Ce spectre de phosphorescence présente toujours deux bandes. Nous avons vu que la bande d'émission de plus courte longueur d'onde était dans tous les cas attribuable au monocation (forme II) et à l'associat. La bande de plus

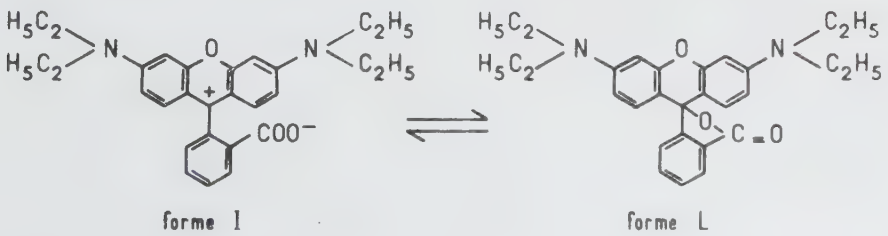
grande longueur d'onde est due au dication (forme III) puisque nous avons pu rejeter l'hypothèse de la phosphorescence de la forme moléculaire.

RHODAMINE B (Rh)

La rhodamine B est un colorant dérivé du xanthène. Ses groupes auxochromes sont des amines substituées comme pour les colorants de la famille de l'acridine ; nous devons donc attendre des formes ioniques dues à leur protonation. Le groupement benzoïque de son côté pourra perdre un atome d'hydrogène en milieu basique.

A - REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

La rhodamine B existe sous forme de monocation dans un domaine de pH compris entre 1 et 8 (1). Pour des valeurs de pH supérieures à 9 , elle existe sous deux formes neutres, la forme I qui est un di-ion, et la forme lactone L (1, 2). Ces deux formes ont été séparées et l'on a montré que la forme I a le même spectre d'absorption que le monocation (forme II du tableau XIII) (2, 3, 4). Ceci s'explique s'il n'y a pratiquement pas de conjugaison entre le squelette xanthènique et le groupement $C_6H_4COO^-$, par exemple par rotation de ce dernier. Comme l'anion benzoate absorbe dans un domaine de longueur d'onde inférieur à 275 nm , il est très difficile de détecter sa présence dans le spectre d'absorption de la rhodamine.



forme I forme L

La forme lactone, incolore, absorbe dans un domaine de longueurs d'ondes inférieures à 350 nm (2).

En milieu fortement acide, le spectre d'absorption visible se compose de trois bandes analogues à celles que l'on retrouve dans le spectre d'absorption de la fluorescéine (1). GUTSZE et WALERYS (1) ne spécifient pas sous quelle forme (ou quelles formes) se trouve la molécule mais signalent qu'elle ne fluoresce pas. Nous verrons dans le cas de la fluorescéine que ces trois bandes sont attribuées à la coexistence de plusieurs formes ioniques et moléculaire.

De nombreuses études du spectre d'absorption ont mis en évidence l'existence d'une association dans les solutions de rhodamine B (5, 6, 7, 8, 9). L'associat auquel on attribue le maximum d'absorption de longueur d'onde 525 nm ne serait pas fluorescent et on explique ainsi l'extinction de la fluorescence lorsque la concentration augmente (8, 10, 11). Suivant les auteurs, cet associat se formerait par liaison entre une molécule de colorant et des ions négatifs (8, 12) ou entre deux molécules de colorant (13). ROHATGI (13) à partir du spectre d'absorption attribue au "dimère" deux maximums de longueurs d'onde 521 et 567 nm et non une seule bande comme l'admettent la plupart des auteurs ; le maximum de plus courte longueur d'onde est le plus intense. On peut penser que le maximum de plus grande longueur d'onde du "dimère", peu décelable expérimentalement à cause de son faible coefficient d'absorption, permettrait d'expliquer la décroissance du rendement quantique de la fluorescence observée pour une excitation dans la région anti-Stokes (14) avec la concentration relativement forte de 5.10^{-3} M/l. Dans ce cas, le spectre d'absorption du "dimère" est formé de deux bandes encadrant le maximum d'absorption du monomère. Sa ressemblance avec le "dimère" des colorants de l'acridine est en faveur d'une association par les groupes auxochromes.

Dans l'eau et pour des concentrations supérieures à 10^{-3} M/l, la rhodamine forme des agrégats associant plus de deux molécules (15).

En milieu basique, on observe dans l'émission de fluorescence un maximum à la longueur d'onde 590 nm (16) ; dans l'eau on l'observe à 570 nm (17) et il est déplacé à 585 nm dans le PVA ou la gélatine (18). Cependant MOROZOV et ses collaborateurs (19) obtiennent deux bandes de fluorescence de durées de vie différentes qu'ils attribuent à des structures différentes de l'eau, bien que leur solvant soit un mélange binaire eau-alcool.

Pendant longtemps on a cru que la rhodamine B ne donnait pas d'émission retardée (20), les émissions de fluorescence lente et de phosphorescence n'ayant pu être détectées. Cependant WALERYS (18) observe autour de la longueur d'onde 640 nm une bande probablement due à la phosphorescence ; il lui attribue deux durées de vie dues à des configurations différentes du voisinage des molécules de colorant.

B - PRESENT TRAVAIL

SPECTRE D'ABSORPTION

a) Solutions liquides

- Influence de l'acidité

En faisant varier l'acidité d'une solution alcoolique de concentration 10^{-4} g/cc (figure III-39) nous identifions les spectres de trois formes ioniques dont les maximums sont reportés dans le tableau XII.

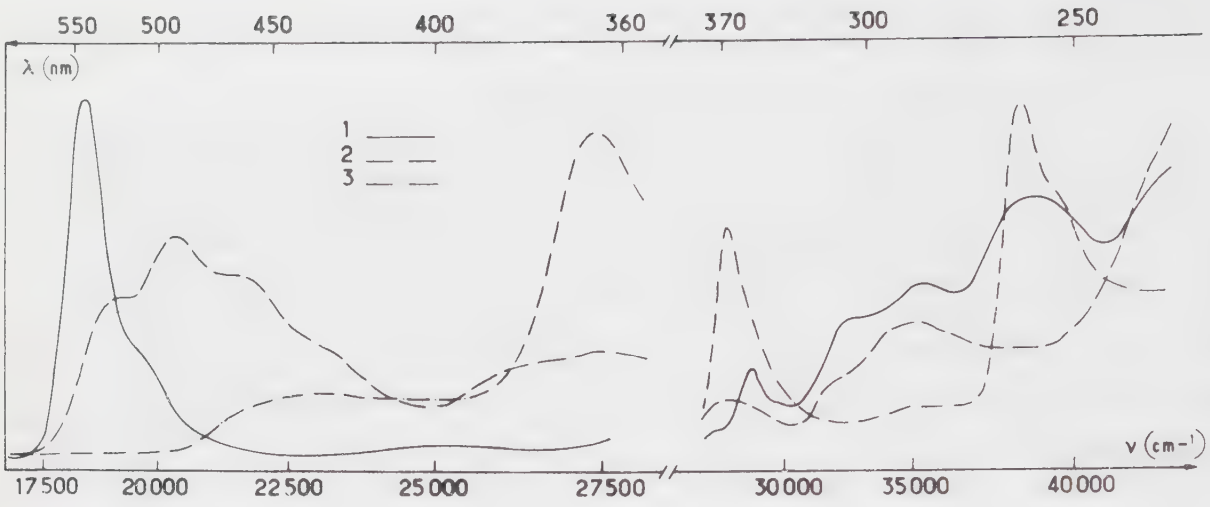


Figure III-39 : Rhodamine B - Absorption en solutions d'acidité variable

$c = 10^{-4}$ g/cc - température ambiante

1 - alcool ; 2 - Rh 30 ; 3 - Rh 90

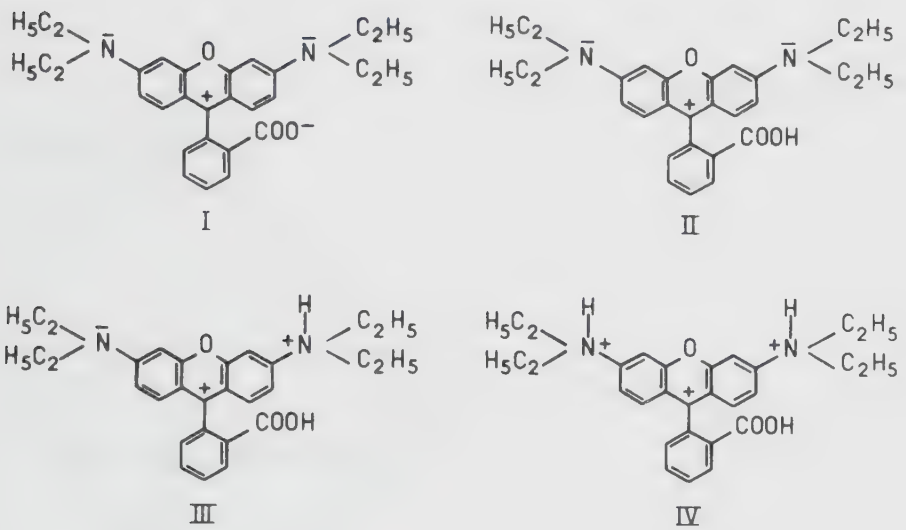
Les spectres d'absorption visible des formes II et III sont analogues à ceux que l'on obtient avec la pyronine B , colorant qui se différencie de la rhodamine B par la suppression du groupe C_6H_4COOH . On justifie ainsi l'absence ou la faiblesse de la conjugaison entre ce groupement et le squelette xanthènique.

La rhodamine B , colorant du xanthène, existe essentiellement sous quatre formes ioniques comme les colorants de l'acridine : forme I ou neutre, forme II ou monocation, forme III ou dication et forme IV ou trication. On peut envisager plusieurs écritures de leurs formules ; nous en donnons une dans le tableau XIII.

Tableau XII : longueurs d'onde en nm des maximums d'absorption

forme I et forme II	550-515-420	398-352	305-283-258	milieu sodique et alcool
forme III	525-492-462-430	382-364	315-292-285	Rh 30
forme IV	440	365	260	Rh 90

Tableau XIII



- Influence de la concentration

L'association de la rhodamine B est mise en évidence par deux spectres obtenus en solution aqueuse de concentrations 10^{-5} et 10^{-2} g/cc reportés sur la figure III-40. L'associat ou forme V montre des maximums d'absorption de longueurs d'onde 520 nm et 560 nm. Par adjonction d'acide à une solution aqueuse nous avons vérifié, comme pour les colorants de l'acridine, que ces bandes d'absorption ne pouvaient être rattachées aux formes ioniques vues précédemment.

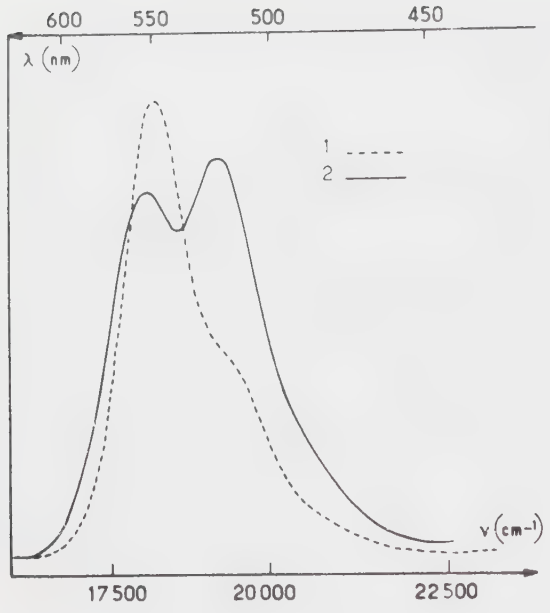


Figure III-40

Rhodamine B - Absorption en solutions aqueuses

Température ambiante

1 - $c = 10^{-5}$ g/cc

2 - $c = 10^{-2}$ g/cc

b) Solutions dans le plexiglass

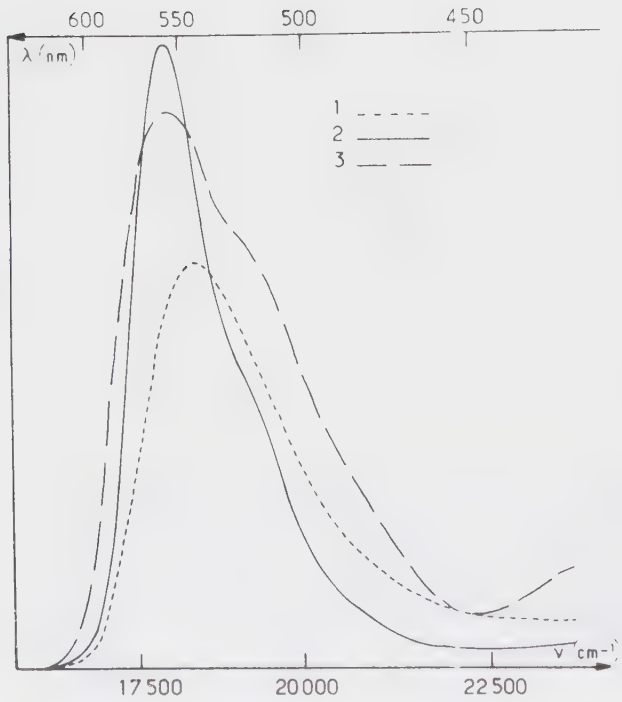


Figure III-41

Rhodamine B - Absorption dans le plexiglass

Température ambiante

1 - $c = 0,5.10^{-4}$ g/cc

2 - $c = 0,5.10^{-3}$ g/cc

3 - $c = 0,5.10^{-2}$ g/cc

Le spectre d'absorption de la rhodamine B dans le plexiglass (figure III-41) présente pour de faibles concentrations un maximum autour de la longueur d'onde 540 nm. A cause de l'acidité du milieu, nous pensons qu'il est dû principalement à la forme II. Aux fortes concentrations, le maximum se déplace vers le rouge et un épaulement vers la longueur d'onde 520 nm indique l'existence d'associats.

SPECTRE DE FLUORESCENCE ET SON SPECTRE D'EXCITATION

a) Solutions liquides

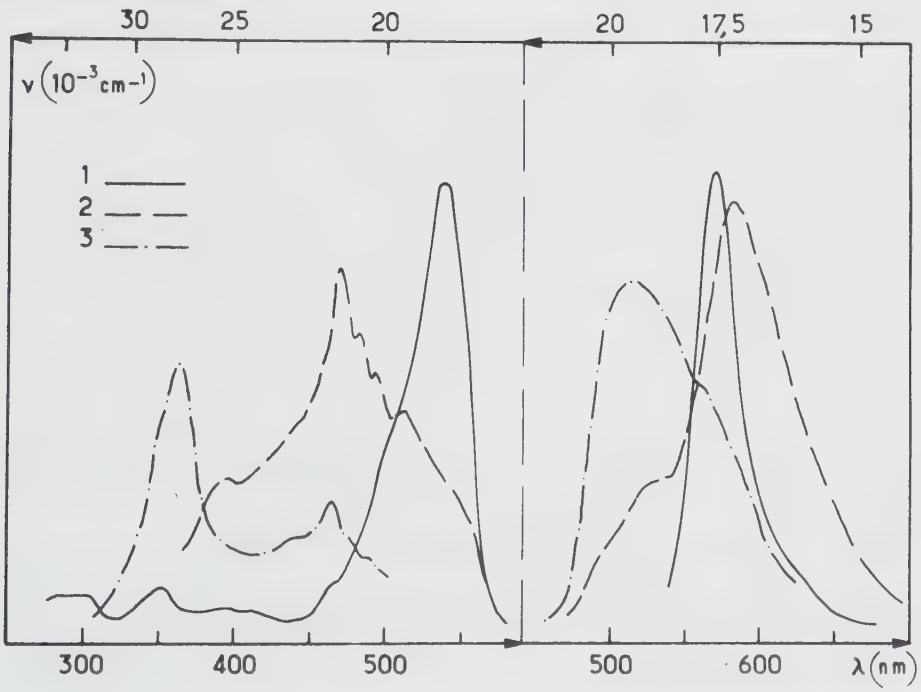


Figure III-42 : Rhodamine B . Fluorescence et son spectre d'excitation Température ambiante.

1 - alcool, $c = 10^{-5}$ g/cc ; 2 - Rh 70, $c = 0,5.10^{-2}$ g/cc

3 - Rh 90, $c = 10^{-5}$ g/cc

La fluorescence du monocation obtenue en solution alcoolique de concentration 10^{-5} g/cc présente un maximum à la longueur d'onde 570 nm (figure III-42). Le faible écart énergétique (975 cm^{-1}) entre les maximums d'excitation (longueur d'onde 540 nm) et de fluorescence (longueur d'onde 570 nm) devrait entraîner une forte perturbation du spectre d'émission lorsque la solution contiendra des associats qui d'après la littérature présentent une bande d'absorption autour de la longueur d'onde 567 nm. C'est effectivement ce que nous observons. La longueur d'onde du maximum de fluorescence se déplace vers le rouge, jusqu'à 600 nm pour une concentration de 10^{-3} g/cc (figure III-43). Dans ce spectre d'excitation on peut alors attribuer nettement à l'associat deux maximums aux longueurs d'onde 515 et 570 nm. On retrouve ainsi, comme ROHATGI (13), "un dimère" de type excitonique.

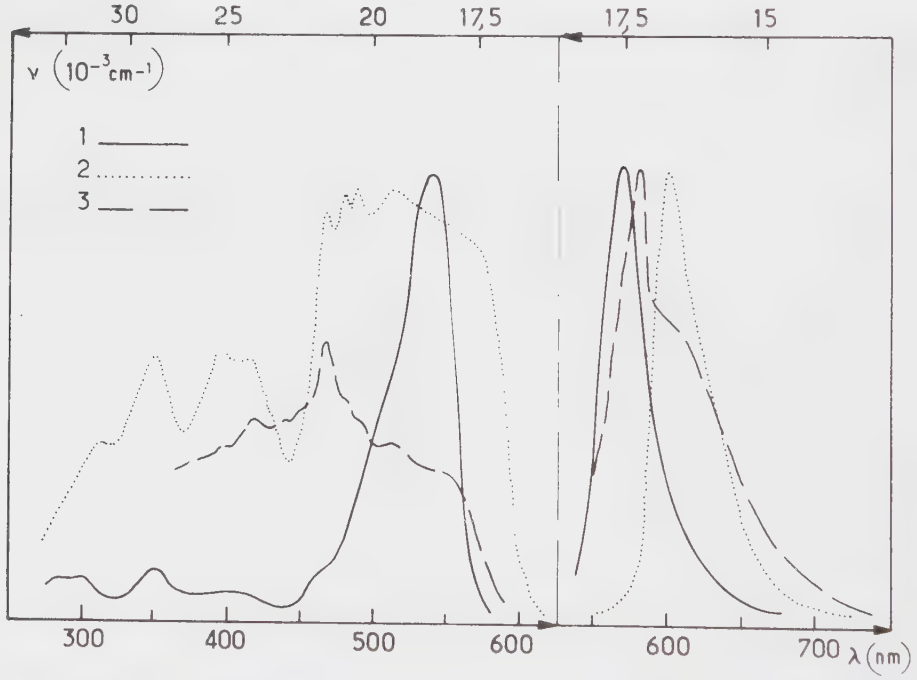


Figure III-43 : Rhodamine B. Fluorescence et son spectre d'excitation. Température ambiante.

1 - alcool, c = 10^{-5} g/cc ; 2 - alcool, c = 10^{-3} g/cc
3 - Rh 40 , c = 10^{-3} g/cc (λex = 525 nm , λem = 630 nm)

Les bandes de fluorescence des formes III et IV, respectivement centrées sur les longueurs d'onde 500 et 525 nm, sont toujours plus ou moins accompagnées de celle de la forme II (figure III-42). On est alors dans l'impossibilité de faire un pointage précis pour la fluorescence de la forme III qui est très peu intense ; si peu intense qu'un auteur a admis qu'elle n'existait pas (1) . Nous reportons la position de ces divers maximums dans le tableau XIV.

Tableau XIV : longueurs d'onde en nm des maximums de fluorescence

forme II	forme III	forme IV	forme V
570	~ 525	500	600

En choisissant convenablement l'acidité et la concentration nous avons pu détecter vers les longueurs d'onde 650-700 nm une faible émission que nous n'avons pas indiquée dans le tableau XIV et qui semble liée à l'existence de la forme III (figure III-43).

b) Solutions dans le plexiglass

La fluorescence de la rhodamine B pour une concentration $0,5.10^{-3}$ g/cc (figure III-44, courbes 2 et 3) semble composée de deux bandes d'émission centrées sur les longueurs d'onde 600 et 650 nm environ ; seule la bande de plus courte longueur d'onde a été obtenue en solutions liquides. La variation de concentration entraîne dans le plexiglass comme dans les solutions liquides un déplacement de la bande de plus courte longueur d'onde (figure III-45), déplacement lié à la présence des formes II et V.

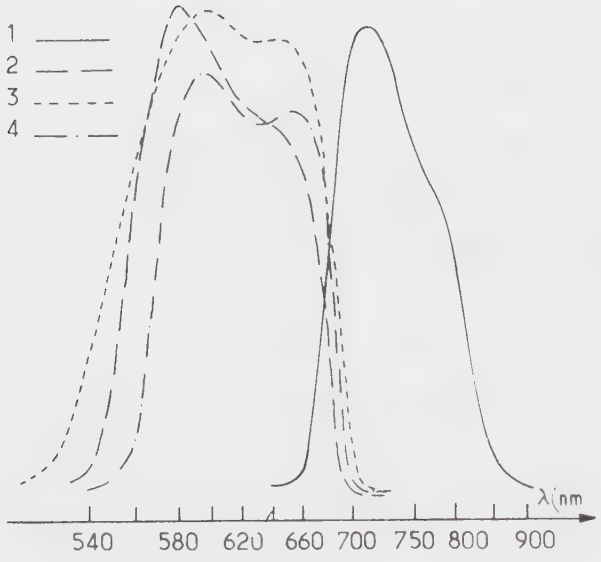


Figure III-44 : Rhodamine B dans le plexiglass (film 103 aF) $c = 0,5.10^{-3}$ g/cc . $\lambda ex > 490$ nm

1 - Phosphorescence à 90°K

2 - Emission totale à 90°K

3 - Emission totale à 20°C

4 - Emission retardée à 20°C

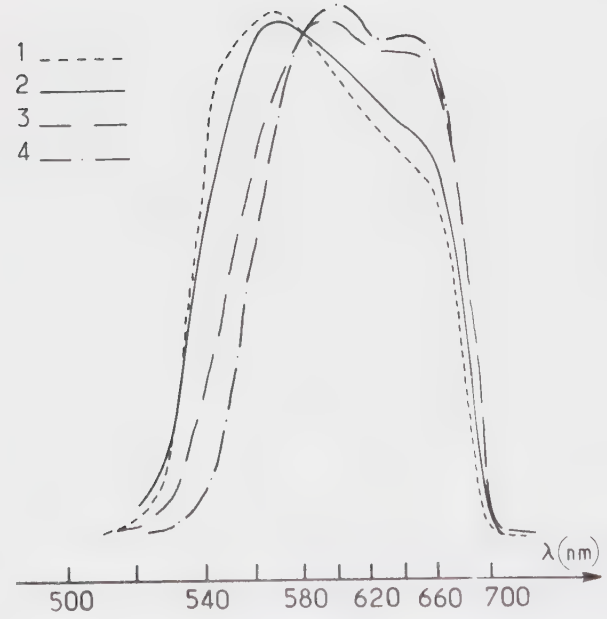


Figure III-45 : Rhodamine B Emission totale dans le plexiglass. Température ambiante - $\lambda ex > 490$ nm

1 - $c = 0,5.10^{-5}$ g/cc

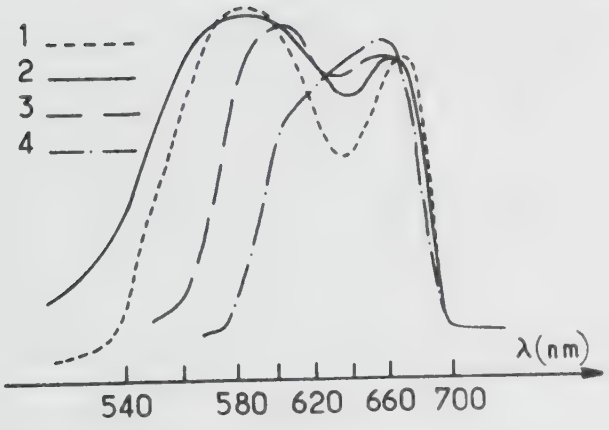
2 - $c = 0,5.10^{-4}$ g/cc

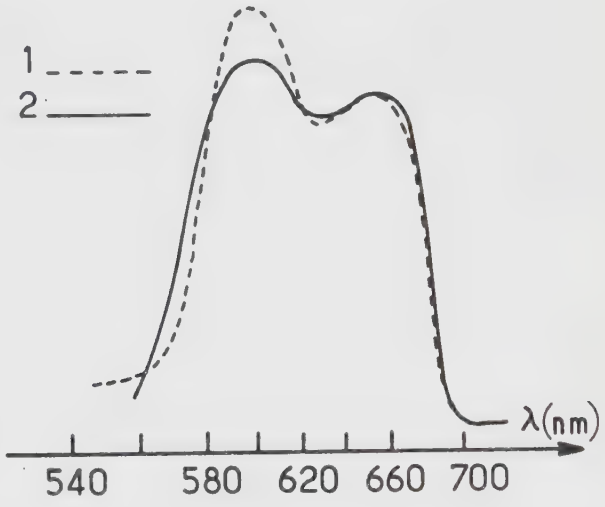
3 - $c = 0,5.10^{-3}$ g/cc

4 - $c = 0,5.10^{-2}$ g/cc

EMISSIONS RETARDEES

Le spectre d'émission retardée obtenu en solution dans le plexiglass à la température ambiante montre, comme pour le spectre d'émission totale, deux maximums (figure III-44, courbe 4) sensibles à la variation de la concentration (figure III-46). Lorsque la longueur d'onde excitatrice décroît, c'est-à-dire lorsqu'on favorise l'excitation de la forme III, on observe une augmentation de l'intensité relative du maximum de longueur d'onde 650 nm (figure III-47). Comme pour les solutions liquides, il semble que la forme III donne une émission qui ne correspond pas à la transition $S^* \rightarrow S$ attendue pour cette forme mais peut être sa phosphorescence.





Rhodamine B. Emission retardée dans le plexiglass
Température ambiante

Figure III-46

λex > 490 nm

1 - $c = 0,5.10^{-5}$ g/cc

2 - $c = 0,5.10^{-4}$ g/cc

3 - $c = 0,5.10^{-3}$ g/cc

4 - $c = 0,5.10^{-2}$ g/cc

Figure III-47

$c = 0,5.10^{-3}$ g/cc

1 - λex > 525 nm

2 - λex > 490 nm

La phosphorescence se situe dans un domaine de longueurs d'onde très "rouge", de plus elle est trop faible ou sa durée de vie trop courte pour que nous puissions en faire une étude complète. Nous avons pu seulement enregistrer un spectre (figure III-44, courbe 1) ; il présente un maximum à la longueur d'onde 720 nm environ.

La pyronine B se comporte comme la rhodamine B avec les mêmes bandes d'émission totale. A la température ambiante la fluorescence lente montre une bande de faible intensité. A basse température la phosphorescence montre un maximum à 720 nm comme la phosphorescence de la rhodamine mais en plus on décèle une faible émission vers les courtes longueurs d'onde, indiquant que l'émission à 650 nm est une phosphorescence de courte durée de vie. Ainsi cette émission que nous avions liée à l'existence de la forme III est sa phosphorescence tandis que le maximum de longueur d'onde 720 nm est dû à la phosphorescence du monocation (forme II). La forme III donne une émission de fluorescence de faible intensité tandis que sa phosphorescence est intense;ce qui indique que la conversion intersystème est importante dans cette molécule.

BIBLIOGRAPHIE DE LA RHODAMINE B

1 - A. GUTSZE et H. WALERYS. - Bull. Acad. Pol. Sc., 23, 1963, 581.

2 - B. STEVENS, N. CONNELLY et P. SUPPAN. - Spectrochimica Acta, 22, 1966, 2121.

3 - H. JAKOBI et H. KUHN. - Z. Electrochem. Phys. Chem., 66, 1962, 46.

4 - T. FORSTER. - Ve Congrès de Spectroscopie Moléculaire, Amsterdam, 1961.

5 - R. DRABENT et A. JACHYM. - Bull. Acad. Pol. Sc., 9, 1961, 701.

6 - L. V. LEVSHIN et V. K. GORSHKOV. - Opt. Spectry., 10, 1961, 401.

7 - L. V. LEVSHIN et I. S. LONSKAYA. - Opt. Spectry., 11, 1961, 148.

8 - J. GLOWACKI. - Acta Phys. Pol., 25, 1964, 767 et 26, 1964, 905.

9 - L. A. LYZINA et A. T. VARTANIAN. - Opt. Spectry., 6, 1959, 110.

10 - B. Ya SVESHNIKOV, V. I. SHIROKOV et L. A. LIMAREVA. - Bull. Acad. Sc. URSS, 27, 1963, 548.

11 - E. LUCATU. - J. Chem. Phys., 63, 1966, 815 et 63, 1966, 819.

12 - R. B. Mc KAY et P. J. HILLSON. - Trans. Faraday Soc., 61, 1965, 1800.

13 - K. K. ROHATGI. - J. Mol. Spectry., 27, 1968, 545.

14 - J. HEVESI et L. KOZMA. - Opt. Spectry., 19, 1965, 241.

15 - E. G. BARANOVA. - Opt. Spectry., 13, 1962, 387.

16 - R. DRABENT et Z. DRABENT. - Bull. Acad. Pol. Sc., 11, 1963, 415.

17 - J. GLOWACKI. - Acta Phys. Pol., 27, 1965, 527.

18 - H. WALERYS. - Bull. Acad. Pol. Sc., 13, 1965, 839.

19 - Y.V. MOROZOV, Y.I. NABERUKHIN et G.V. GURSKII. - Opt. Spectry., 12, 1961, 232.

20 - P. PRINGSHEIM. - Fluorescence and Phosphorescence, 1949, p. 448.

FLUORESCEINE

La fluorescéine est le colorant typique de la famille du xanthène qui se caractérise par la présence d'un atome d'oxygène intracyclique. Les auxochromes sont des atomes d'oxygène (et non des groupements aminés) qui donneront lieu à une protonation comme dans les colorants de l'acridine. Nous savons que dans les colorants de la famille de l'acridine l'augmentation du nombre de sites protonés entraîne un déplacement vers le rouge des spectres d'absorption, le trication qui se rapproche de l'ion acridine étant à part. Pour les colorants de la famille du xanthène nous verrons au contraire un déplacement vers le bleu lorsqu'on augmente l'acidité du solvant.

A - REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

On admet que la fluorescéine présente au moins quatre formes ioniques :

- un dianion, ou forme I, qui est prépondérant dans un domaine de pH compris entre 9 et 12
- un monoanion, ou forme II, qui apparaît pour des valeurs du pH voisines de 5-6
- une molécule neutre, ou forme III, qui se rencontre à un pH voisin de 3-4
- un cation, ou forme IV, pour un pH de l'ordre de zéro.

Nous reproduisons dans le tableau XV les formes limites que

l'on peut adopter pour la fluorescéine et dans le tableau XVI les longueurs d'onde des maximums d'absorption visible attribués à ces formes.

Tableau XV

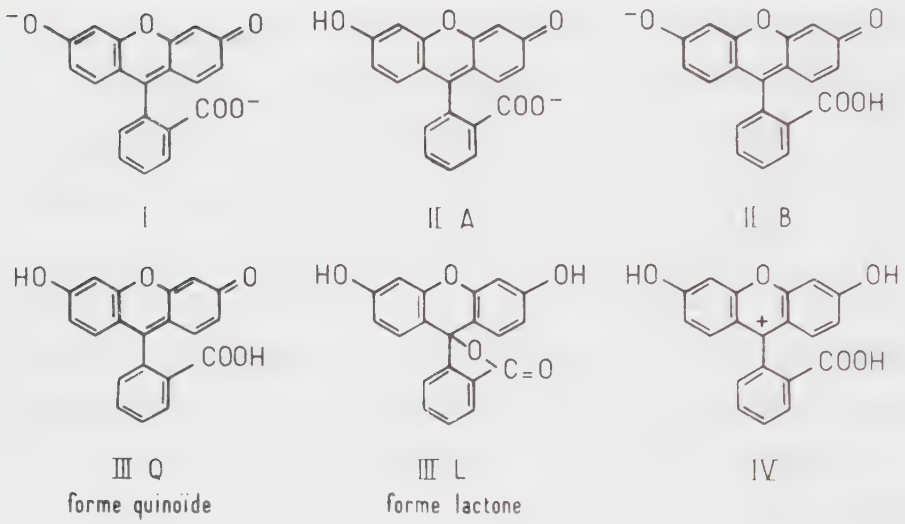


Tableau XVI : longueurs d'onde en nm des maximums d'absorption

Références	1	2	3	4	5	6
forme I	495	491	490	485	490	
forme II	460(A) 495(B)	475 455 }A	465	457		455
forme III Q	460	437			437	
forme III L	incolore	incolore				
forme IV	434	437	430	430	437	

Les formes I et IV sont généralement admises par les différents auteurs qui ont étudié la fluorescéine. Les formes II et III Q semblent plus discutées.

ROHATGI (7) admet que le groupe benzoïque fait un angle d'environ 30 à 40° avec le plan du squelette xanthénique (cette rotation est due à l'effet stérique du groupe COOH) qui, ainsi, n'intervient plus dans le système électronique. Dans ce cas les formes I et II B d'une part, II A et III Q de l'autre, auront le même spectre d'absorption visible (1).

Dans des solutions dont le pH est compris entre 2 et 8, plusieurs auteurs admettent la coexistence de toutes ces formes (3, 4, 8). On a aussi admis l'existence d'associats (7 à 12) ; le tableau XVII indique les maximums d'absorption qui leur sont attribués. Nous constatons qu'il s'agit toujours de l'association du dianion. Le maximum d'absorption du monomère est généralement encadré par les deux maximums du "dimère" comme dans le cas d'une association de type excitonique.

Tableau XVII : longueurs d'onde en nm des maximums d'absorption

Références	7	9	10	11	12
monomère	489	495	490	490	496
associat	467 507	468	470 510	470 502	472 505
polymère		465			

La coexistence des diverses formes de fluorescéine dans une même solution rendra difficile l'attribution des émissions respectives (si elles existent) à chacune de ces formes. D'autant plus qu'il faudrait aussi tenir compte des différences de pK dans les états excités et fondamentaux. L'ensemble des études porte sur l'émission de deux formes : l'une acide ou cation, l'autre basique que l'on pense être le dianion. Le cation donne une émission de fluorescence avec un maximum à 460 ou 480 nm environ (13, 14, 15) et une émission de phosphorescence avec un maximum vers 550 ou 570 nm (13 à 17). Le dianion fluoresce vers 520 nm (1, 5, 8, 9, 12, 15) ; quant à sa phosphorescence, certains auteurs admettent qu'elle n'existe pas (8), d'autres l'observent à la longueur d'onde 590 nm (16). Remarquons cependant que PRINGSHEIM attribue au monoanion l'émission de longueur d'onde 520 nm et au dianion l'émission de longueur d'onde 577 nm. Récemment (9) on a attribué à la fluorescence du "dimère" un maximum de longueur d'onde 555 nm et à la fluorescence du polymère un maximum à 595 nm.

Les émissions des formes II et III n'ont pas encore, à notre connaissance, été mises en évidence avec certitude.

Pour résumer nous dirons que, malgré un nombre considérable d'études, les spectres d'émission de la fluorescéine sont encore mal connus.

B - PRESENT TRAVAIL

SPECTRE D'ABSORPTION

Les données par la littérature des spectres d'absorption et des différentes formes ioniques ou moléculaires nous ont semblé satisfaisantes et nous nous sommes contenté d'une étude dans les solvants que nous utilisons habituellement. Le spectre d'absorption

visible dans le plexiglass montre un seul maximum à la longueur d'onde 443 nm (figure III-48) dû au cation. Dans l'alcool le spectre présente trois maximums ou épaulements de longueurs d'onde 485, 455 et 430 nm environ que l'on peut relier aux formes I, II et IV.

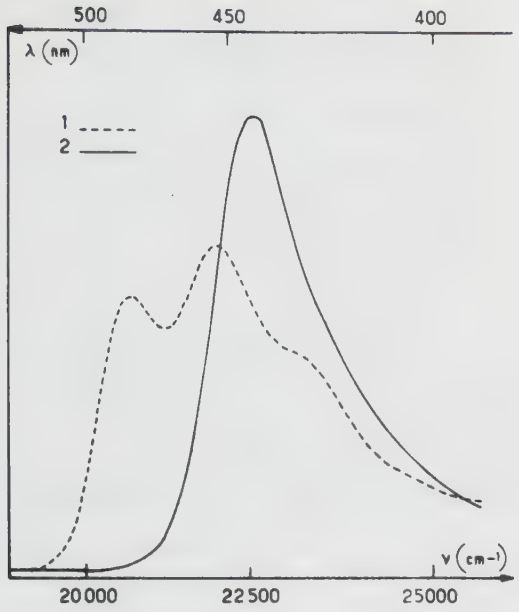


Figure III-48 : Fluorescéine
Absorption à la température ambiante

1 - Plexiglass et chloro-2-éthanol, $c = 10^{-3}$ g/cc

2 - Alcool, $c = 10^{-4}$ g/cc

SPECTRE DE FLUORESCENCE

Dans le plexiglass l'émission totale présente deux bandes centrées sur les longueurs d'onde 480 et 520 nm environ (figure III-49, courbes 2 et 3) qui sont des bandes de fluorescence et une partie spectrale plus "rouge" due à la phosphorescence.

Comme l'intensité relative des deux bandes de fluorescence dans le plexiglass ne varie sensiblement pas avec la concentration (figure III-50) on peut attribuer ces bandes à des formes ioniques plutôt qu'à un associat éventuel.

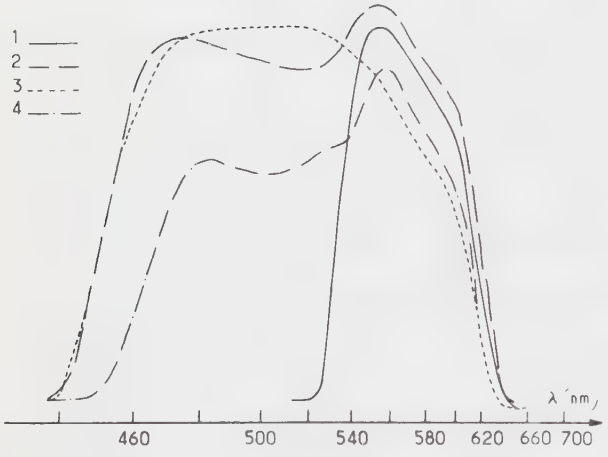


Figure III-49 : Fluorescéine dans le plexiglass

$c = 10^{-3}$ g/cc

$\lambda ex \sim 436$ nm

1 - Phosphorescence à 90°K

2 - Emission totale à 90°K

3 - Emission totale à 20°C

4 - Emission retardée à 20°C

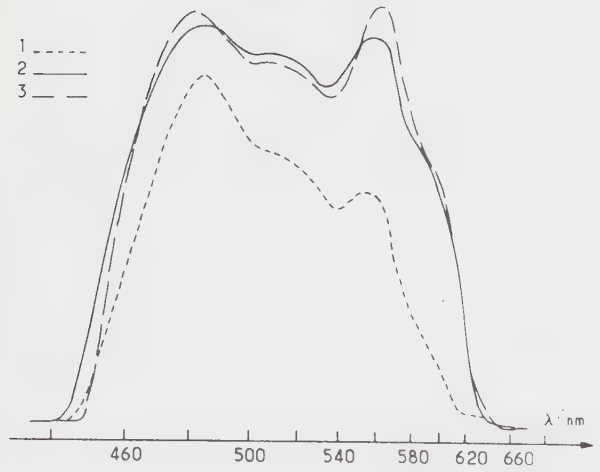


Figure III-50 : Fluorescéine Emission totale dans le plexiglass à basse température

$\lambda ex \sim 475$ nm

1 - $c = 10^{-5}$ g/cc

2 - $c = 10^{-4}$ g/cc

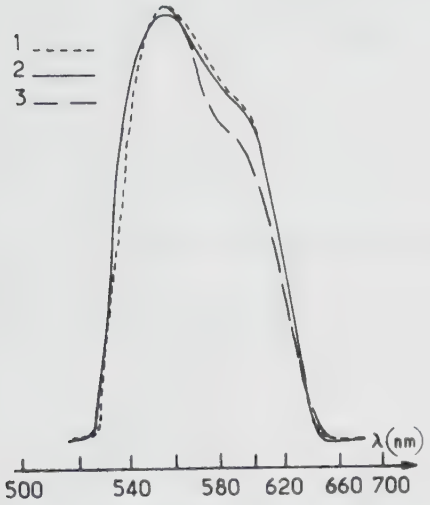
3 - $c = 10^{-3}$ g/cc

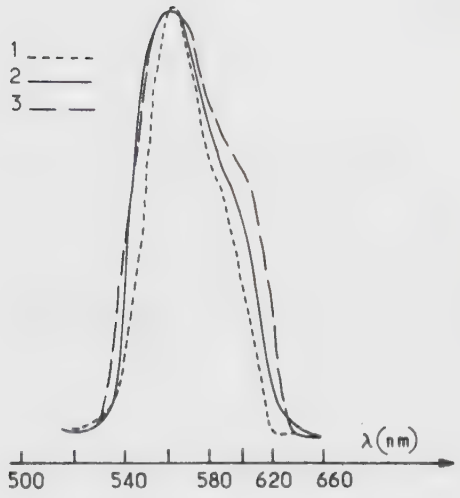
SPECTRE DE PHOSPHORESCENCE

L'émission de phosphorescence, quel que soit le solvant, plexiglass ou PMAM, alcool, chloro-2-éthanol, a en général la même allure. Elle présente un maximum vers la longueur d'onde 550 nm et des épaulements de plus grandes longueurs d'onde 595 et 640 nm environ.

Dans le plexiglass (figure III-51 et III-52) l'intensité de l'épaulement est faiblement sensible aux variations de la longueur d'onde excitatrice ou de la concentration ce qui indique que les émissions centrées

sur les longueurs d'onde 550 et 595 nm sont liées à deux formes de la fluorescéine.





Fluorescéine - Phosphorescence dans le plexiglass à basse température

Figure III-51

$c = 10^{-3}$ g/cc

1 - $\lambda ex \sim 475$ nm

2 - $\lambda ex \sim 436$ nm

3 - $\lambda ex \sim 415$ nm

Figure III-52

$\lambda ex \sim 475$ nm

1 - $c = 10^{-5}$ g/cc

2 - $c = 10^{-4}$ g/cc

3 - $c = 10^{-3}$ g/cc

Dans un milieu d'acidité comparable à l'alcool (échantillon de PMAM -1 (*)) nous observons une forte influence de la longueur d'onde excitatrice (figure III-53) sur le spectre de phosphorescence qui s'interprète par l'attribution de l'émission de plus courte longueur d'onde à la forme la plus acide.

(*) PMAM-1 désigne un échantillon polymérisé de méthacrylate de méthyle contenant de l'alcool (8 %) et du HCl (1 %), de concentration $1,6.10^{-4}$ g/cc.

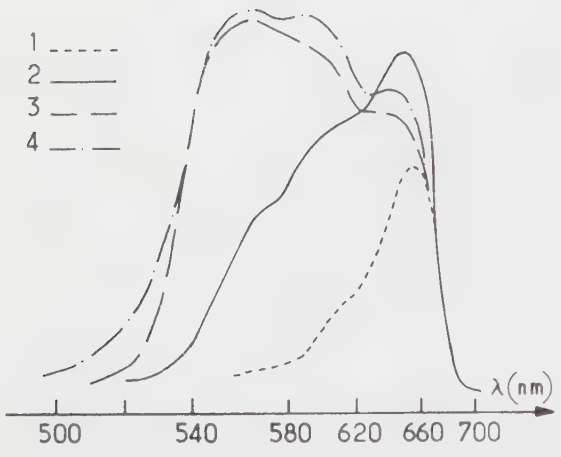


Figure III-53 : Fluorescéine dans le PMAM
Phosphorescence à basse température

$c = 1,6.10^{-4}$ g/cc

1 - $\lambda ex \sim 520$ nm

2 - $\lambda ex \sim 495$ nm

3 - $\lambda ex \sim 436$ nm

4 - $\lambda ex \sim 415$ nm

Le spectre d'absorption T-T en solution solide dans le plexiglass (18) est le même que celui obtenu par ZANKER en solution d'éther-éthanol acidifié par 20 % d'acide chlorhydrique (19). La comparaison avec les spectres d'absorption T-T obtenus pour les différentes formes de la fluorescéine par LINDQVIST (2, 20) indique que dans le plexiglass nous avons essentiellement le cation à l'état triplet. Ainsi la phosphorescence de longueur d'onde 550 nm est due au cation.

SPECTRE DE FLUORESCENCE LENTE

Le spectre de fluorescence lente (figure III-49, courbe 4) montre encore la coexistence des formes II et IV ; cette émission de fluorescence lente dans le plexiglass se superpose naturellement à l'émission de phosphorescence qui est d'ailleurs prépondérante. La fluorescence lente est une émission peu intense aussi notre étude a porté uniquement sur deux longueurs d'onde excitatrices 436 et 415 nm. Comme pour la phosphorescence nous trouvons que l'excitation par la longueur d'onde 415 nm favorise l'émission de la forme II.

BIBLIOGRAPHIE DE LA FLUORESCEINE

1 - M. ROZWADOWSKI. - Acta Phys. Pol., 20, 1961, 1005.

2 - L. LINDQVIST. - Archiv. för Kemi, 16, 1960, 79.

3 - J. GLOWACKI et U. KAMINSKA. - Acta Phys. Pol., 23, 1963, 43.

4 - A. GUTSZE et H. WALERYS. - Bull. Acad. Pol. Sc., 9, 1961, 507.

5 - G WEBER et F. W. TEALE. - Trans. Faraday Soc., 54, 1958, 640.

6 - R. DRABENT. - Bull. Acad Pol. Sc., 14, 1966, 229.

7 - K. K. ROHATGI. - J. Mol. Spectry., 27, 1968, 545.

8 - L. S. FORSTER et D. DUDLEY. - J. Phys. Chem., 66, 1962, 838.

9 - D. D. PANT, C. L. BHAGCHANDANI, K. C. PANT et S. P. VERMA. - Chem. Phys. Letters, 9, 1971, 546.

10 - L. V. LAVOREL. - J. Phys. Chem., 61, 1957, 1600.

11 - V. L. LEVSHIN et L. V. KROTOVA. - Opt. Spectry., 13, 1962, 457.

12 - R. DRABENT et Z. DRABENT. - Bull. Acad. Pol. Sc., 11, 1963, 415.

13 - V. ZANKER et H. RAMMENSEE. - Z. Phys. Chem., 26, 1960, 168.

14 - R. POHOSKI. - Bull. Acad. Pol. Sc., 10, 1962, 505.

15 - G. N. LEWIS, D. LIPKIN et T. T. MAGEL. - J. Amer. Chem. Soc., 63, 1941, 3005.

16 - J. POSTHUMA et W. BERENDS. - Biochim. Biophys. Acta., 112, 1966, 422.

17 - J. GRZYWACZ et R. POHOSKI. - Z. Naturforsch., 19a, 1964, 440.

18 - G. NOUCHI. - Thèse d'Etat, Bordeaux, 1966.
R. LOCHET et G. NOUCHI. - C.R. Acad. Sc., 260, 1965, 1897.

19 - V. ZANKER et Z. MIETHKE. - Z. Naturforsch., 12a, 1957, 385.

20 - L. LINDQVIST. - J. Phys. Chem., 67, 1963, 1701.

EOSINE

Ce colorant est une fluorescéine tétrabromée ; il faudra donc s'attendre à l'existence de plusieurs formes ioniques.

A - REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

Nous ne reproduisons pas ici le schéma des différentes formes ioniques ou moléculaires de l'éosine car elles sont semblables aux formes de la fluorescéine reportées dans le tableau XV.

Le dianion ou forme I existe dans un large domaine de pH compris entre 4,4 et 12 ; son spectre d'absorption est maximal à 516 nm environ (1).

En milieu aqueux et dans un domaine de pH plus grand que 4 , le spectre d'absorption se compose d'une bande fine maximale pour la longueur d'onde 516 nm et d'un épaulement vers 499 nm. Il semble admis que le maximum soit dû au dianion. Quant à l'épaulement, il est attribué par les différents auteurs, soit à un niveau vibrationnel, soit au monoanion, soit au "dimère" du dianion (2), soit au cation (3,4), soit au dianion de la fluorescéine par débromation de l'éosine (5) .

Dans l'hypothèse de l'existence d'un associat, certains auteurs lui attribuent une seule bande (6,7) dans un domaine de plus courtes longueurs d'onde que celui du monomère ou deux bandes de longueurs

d'onde 495 et 522 nm (8, 9) qui encadrent le maximum du monomère à 516 nm.

La décroissance du rendement de fluorescence pour une excitation anti-Stokes semble indiquer la présence d'une absorption décalée vers le rouge par rapport à celle du dianion et qui serait due à l'associat (9).

Ce dianion émet une bande de fluorescence centrée sur la longueur d'onde 549 nm et une bande de phosphorescence centrée sur 690 nm (2, 8 à 14). Peu d'auteurs signalent en plus une émission de fluorescence vers 590-600 nm (2, 12, 15) qu'ils n'attribuent pas en général ou attribuent à la fluorescence de l'associat (2, 10).

B - PRESENT TRAVAIL

Les spectres d'absorption obtenus dans différents solvants sont reportés sur la figure III-54. On y reconnait les maximums du cation et du dianion.

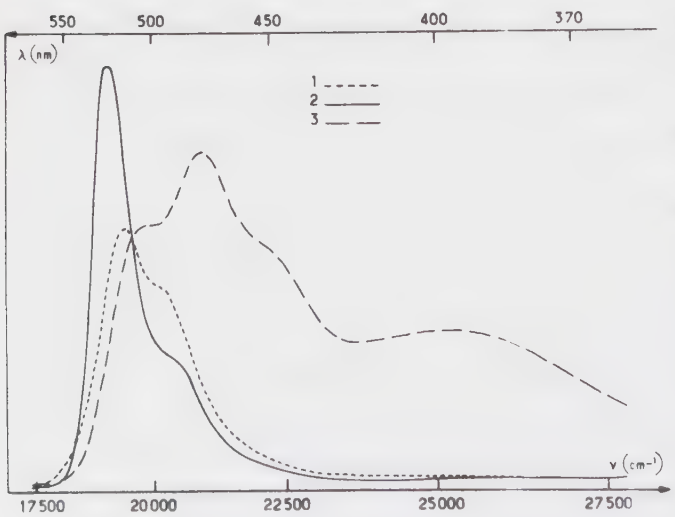


Figure III-54 : Eosine
Absorption Température ambiante
$c = 10^{-2}$ g/cc
1 - eau
2 - alcool
3 - Plexiglass et chloro-2-éthanol

Les enregistrements des spectres d'émission d'échantillons d'éosine dans le plexiglass sont regroupés sur la figure III-55. La fluorescence lente en est absente ; nous n'avons pas réussi à l'obtenir soit à cause de sa faible intensité soit à cause de sa courte durée de vie. La fluorescence (figure III-55, courbes 2 et 3) montre un seul maximum de longueur d'onde 540 nm attribué au dianion. Nous n'avons pas observé la fluorescence du cation et n'ayant trouvé aucune indication la concernant dans la littérature nous ignorons si elle a été recherchée.

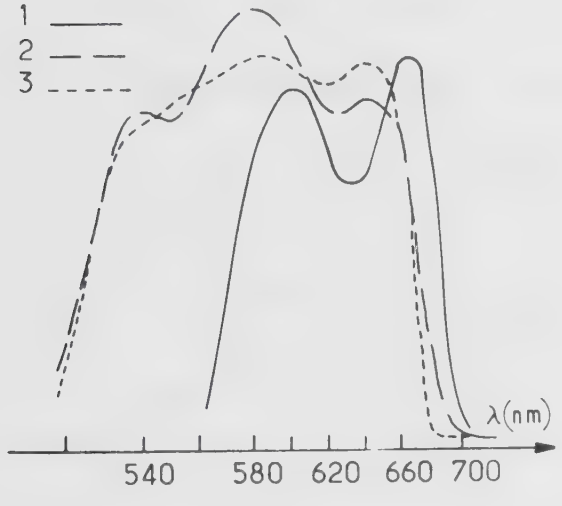


Figure III-55 : Eosine dans le plexiglass

$c = 0,5.10^{-2}$ g/cc

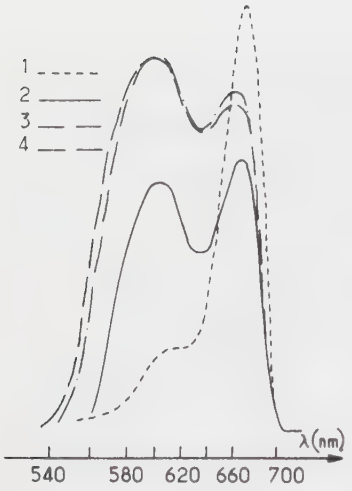
$\lambda ex \sim 475$ nm

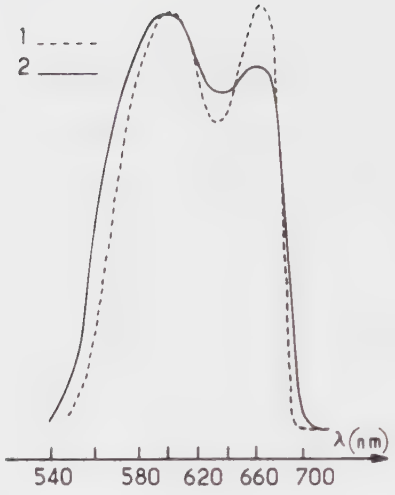
1 - Phosphoresence à 90°K

2 - Emission totale à 90°K

3 - Emission totale à 20°C

Si la fluorescence présente une seule bande, par contre l'émission de phosphorescence comprend deux bandes. Celle de plus grande longueur d'onde centrée au-delà de 670 nm, en accord avec les données de la littérature, est due au dianion. L'émission vers 600 nm, rarement observée, n'a jamais été attribuée à une phosphorescence mais plutôt à la fluorescence de l'associat. Cette bande est pourtant une émission retardée puisque nous l'obtenons avec un phosphoroscope et la valeur de son taux de polarisation, que nous reportons dans le chapitre suivant, confirme bien qu'il s'agit d'une phosphorescence.





Eosine - Phosphorescence dans le plexiglass à basse température

Figure III-56

$c = 0,5.10^{-2}$ g/cc

1 - $\lambda ex > 490$ nm

2 - $\lambda ex \sim 475$ nm

3 - $\lambda ex \sim 436$ nm

4 - $\lambda ex \sim 415$ nm

Figure III-57

$\lambda ex \sim 436$ nm

1 - $c = 0,5.10^{-3}$ g/cc

2 - $c = 0,5.10^{-2}$ g/cc

Nous avons recherché l'influence de la longueur d'onde excitatrice (figure III-56) et celle de la concentration (figure III-57) sur ces émissions de phosphorescence, dans la limite où ces mesures ont été possibles. Lorsque la longueur d'onde excitatrice augmente, le spectre d'émission varie beaucoup : la bande vers 600 nm disparaît lorsque la longueur d'onde excitatrice atteint la bande d'absorption du dianion. C'est pourquoi nous pensons que l'émission à 600 nm est attribuable à la phosphorescence du cation ; si elle n'a pas été observée précédemment, c'est que très peu d'études ont été faites en milieu acide.

BIBLIOGRAPHIE DE L'EOSINE

1 - E.F. ZWICKER et L.I. GROSSWEINER. - J. Phys. Chem., 67, 1963, 549.

2 - D.D. PANT, C.L. BHAGCHANDANI, K.C. PANT et S.P. VERMA. - Chem. Phys. Letters, 9, 1971, 547.

3 - J. GRZYWACZ et ICIEK. - Bull. Acad. Pol. Sc., 9, 1962, 415.

4 - A. GUTSZE et H. WALERYS. - Bull. Acad. Pol. Sc., 9, 1961, 839.

5 - M. IMAMURA et M. KOIZUMI. - Bull. Chem. Soc. Jap., 29, 1956, 914.

6 - L.I. GROSSWEINER et E.F. ZWICKER. - J. Chem. Phys., 34, 1961, 1411.

7 - R.W. CHAMBERS et D.R. KEARNS. - J. Phys. Chem., 72, 1968, 4718.

8 - R. DRABENT et Z. DRABENT. - Bull. Acad. Pol. Sc., 11, 1963, 415.

R. DRABENT et J. SIODMIAK. - Bull. Acad. Pol. Sc., 14, 1966, 233.

9 - D. FRACKOWIAK, L. KORBUTT et T. KORBUTT. - Bull. Acad. Pol. Sc., 6, 1956, 781.

10 - S.S. RATHI et M.K. MACHWE. - Acta Phys. Acad. Sc. Hungar, 23, 1967, 449.

11 - L.S. FORSTER et D. DUDLEY. - J. Phys. Chem., 66, 1962, 838.

12 - R. DRABENT. - Bull. Acad. Pol. Sc., 8, 1960, 403.

13 - M. EWALD et G. DUROCHER. - Chem. Phys. Letters, 8, 1971, 479.

14 - C.A. PARKER et C.G. HATCHARD. - Trans. Faraday Soc., 57, 1961, 1894.

RESUME DES COLORANTS DU XANTHENE

La comparaison des trois colorants du xanthène, rhodamine B, fluorescéine et éosine, est moins aisée que celle des colorants de l'acridine. En effet, c'est seulement avec la fluorescéine que nous avons pu étudier à la fois la fluorescence lente et la phosphorescence. Avec l'éosine, nous n'avons pu enregistrer que la phosphorescence . Avec la rhodamine B nous observons essentiellement la fluorescence lente.

La rhodamine B existe sous quatre formes, molécule neutre, monocation, dication et trication, comme les colorants de l'acridine tandis que la fluorescéine et l'éosine existent sous une seule forme cationique, sous forme de mono- et di-anion et de molécules neutres.

Toutes les formes ioniques de la rhodamine B émettent en fluorescence comme les colorants de l'acridine.

La fluorescéine semble émettre une fluorescence sous deux formes seulement, l'attribution exacte étant difficile.

Quant à l'éosine nous observons seulement l'émission de la forme basique, le milieu n'étant probablement pas assez acide pour enregistrer la fluorescence du cation.

La fluorescéine et l'éosine émettent en phosphorescence sous deux formes au moins : cationique et basique, le cation émettant dans un domaine de plus courte longueur d'onde que l'anion.

On constate une grande similitude de comportement entre la rhodamine B et les colorants de l'acridine qui ont en commun des substituants aminés. La rhodamine B permet ainsi de relier les deux groupes de colorants.

CHAPITRE IV

POLARISATION DES EMISSIONS POUR UNE EXCITATION PAR LA PREMIERE BANDE $S \rightarrow S^*$

Pour chaque groupe de colorants, nous commentons tout d'abord les spectres de polarisation de la phosphorescence ; on obtient la phosphorescence à l'état pur dans l'émission retardée à basse température. Dans le cas de la rhodamine B , la phosphorescence se trouvant dans une région trop "rouge" pour être enregistrée sur nos plaques photographiques, nous avons dû nous limiter à quelques mesures du côté des courtes longueurs d'onde et nous ne donnons pas le spectre de polarisation.

Nous reproduisons ensuite, chaque fois que nous le pouvons, le spectre de polarisation de l'émission totale à la température ambiante obtenu au laboratoire au cours d'un travail antérieur (1). La fluorescence est prépondérante dans cette émission ; la fluorescence lente y est négligeable mais, du côté des grandes longueurs d'onde, la phosphorescence est présente et dans certains cas importante. C'est en effet une caractéristique de nos échantillons de plexiglass ou de PMAM (méthacrylate de méthyle polymérisé) de rendre possible une émission de phosphorescence dès la température ordinaire.

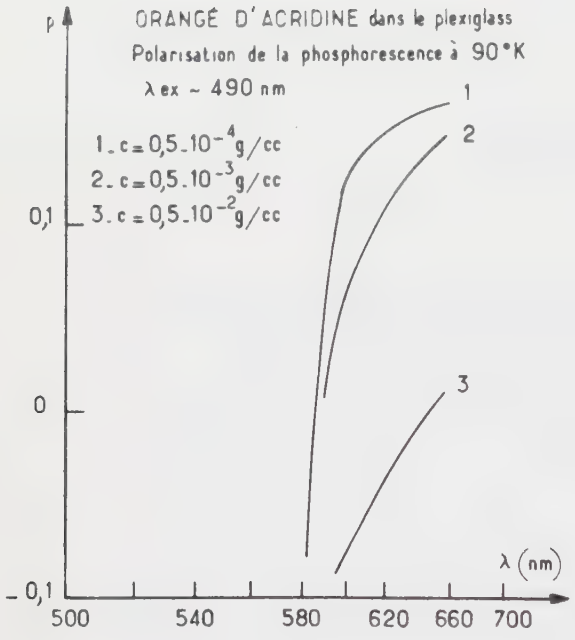


Figure IV-1

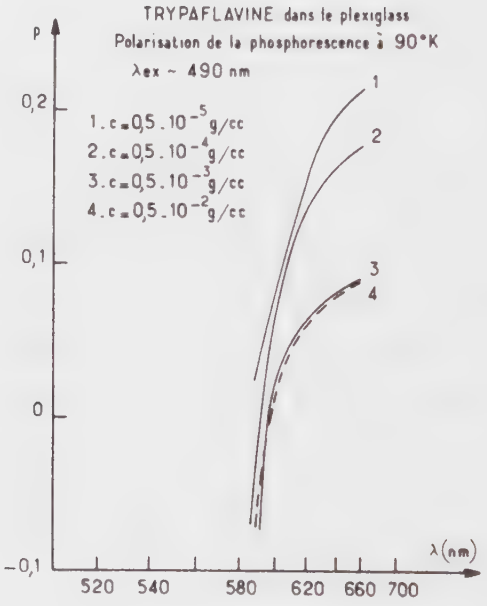


Figure IV-2

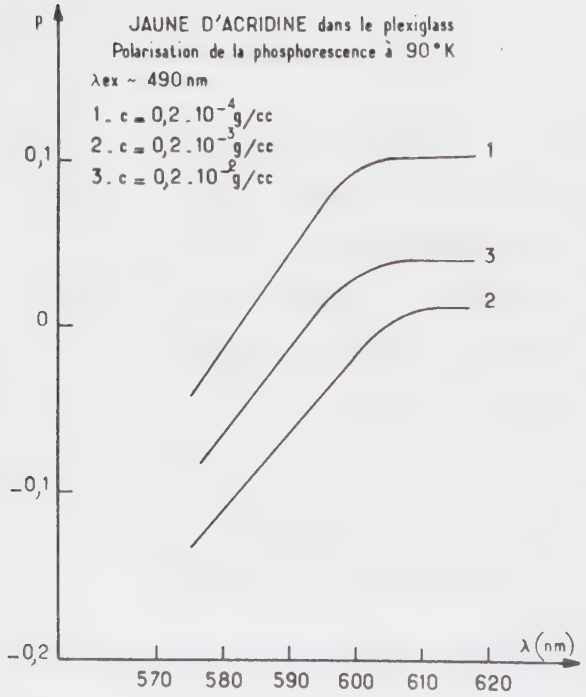


Figure IV-3

Le spectre de polarisation de l'émission retardée à la température ordinaire sera donné en dernier lieu. Dans cette émission, on obtient à la fois la fluorescence lente et la phosphorescence qui ont évidemment un domaine spectral commun ; il en résulte que la fluorescence lente peut être étudiée à l'état pur seulement du côté des plus courtes longueurs d'onde.

A - COLORANTS DE L'ACRIDINE

Phosphorescence

Les figures IV-1, IV-2 et IV-3 montrent les spectres de polarisation de la phosphorescence dans le plexiglass de l'orangé d'acridine, de la trypaflavine et du jaune d'acridine à différentes concentrations et pour une même longueur d'onde excitatrice. Sur les figures IV-4 et IV-5 on voit les spectres de polarisation de la phosphorescence dans le plexiglass de la trypaflavine et du jaune d'acridine pour différentes longueurs d'onde excitatrices et une même concentration.

Tous ces spectres ont la même allure. Le taux de polarisation augmente avec la longueur d'onde d'émission, présentant une croissance à peu près linéaire du côté "bleu". Du côté "rouge", on voit nettement un palier pour le jaune d'acridine, tandis que pour l'orangé d'acridine et la trypaflavine on n'en décèle que l'amorce. Il est probable que ce palier existe dans des régions de longueurs d'onde trop élevées pour être enregistrées par nos émulsions photographiques.

Les taux de polarisation, positifs ou négatifs, restent toujours faibles. Leur variation le long du spectre de phosphorescence, qui peut atteindre 0,20 ou 0,25, est trop importante pour être due

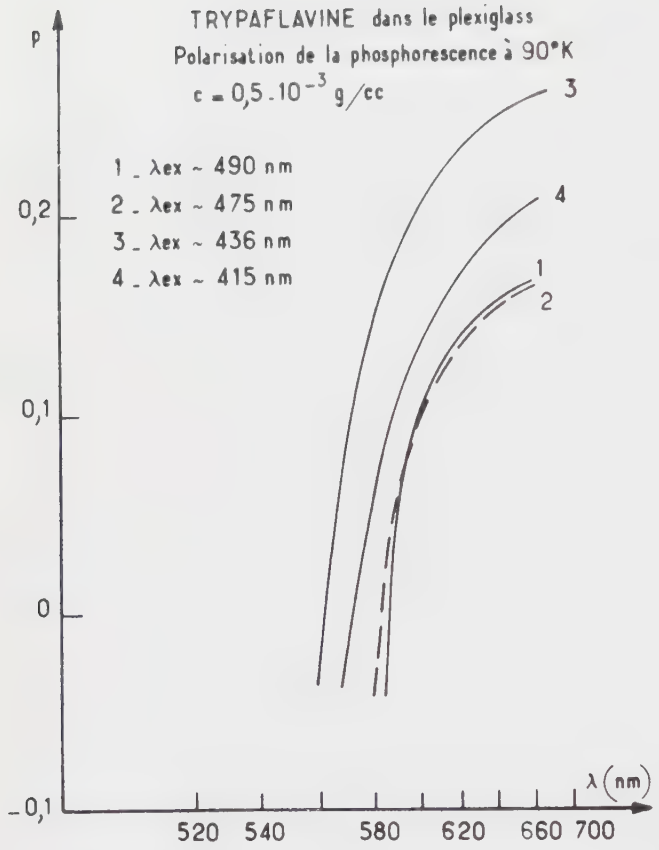


Figure IV-4

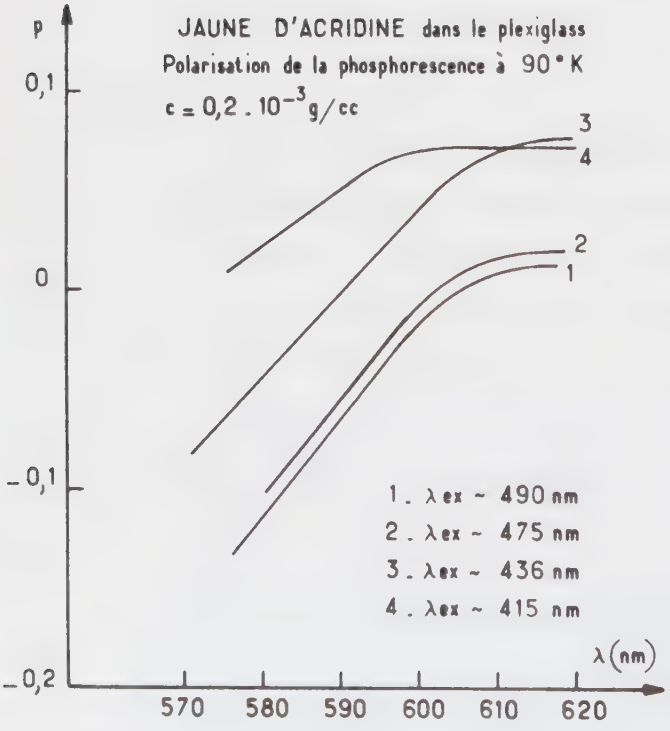


Figure IV-5

à une influence vibrationnelle. Elle s'explique par l'existence de deux niveaux métastables appartenant à deux centres luminescents dont les moments de transition peuvent être très différents. La variation linéaire du spectre de polarisation se situe dans la région spectrale correspondant à la bande de phosphorescence du monocation (forme II, tableau XI) ; le palier (ou l'amorce de palier) se situe dans la région spectrale où l'on attend la bande de phosphorescence des formes I et III. Toutefois, à cause de la similitude des spectres de polarisation des trois colorants, et du fait que la trypaflavine n'existe pas sous la forme I (ou moléculaire), nous admettons que cette bande d'émission et le palier de polarisation correspondant sont dus à la forme III ou dication.

Si dans certains cas les taux de polarisation tout au long du spectre sont toujours positifs (courbe 4, figure IV-5 et courbe 1, figure IV-2) ou toujours négatifs (courbe 3, figure IV-1 et courbe 2, figure IV-3), c'est que, dans l'influence pondérée des moments de transition des deux centres, l'un d'entre eux est prépondérant. Dans les spectres de PILIPOVITCH (2) qui ont la même allure que les nôtres le taux de polarisation est toujours positif pour le jaune d'acridine et toujours négatif pour la trypaflavine, mais cet auteur n'envisage pas l'intervention de deux centres émetteurs. En réalité il a enregistré peu de spectres ; leur multiplication dans des conditions expérimentales différentes, en particulier en faisant varier la longueur d'onde excitatrice, l'aurait probablement amené à envisager la présence de deux formes.

Nous avons vu que l'absorption de nos trois colorants en solution dans le plexiglass était surtout due au monocation, le moment de transition correspondant étant orienté le long de OX, grand axe de la molécule, comme l'ont montré des calculs à l'aide de méthodes différentes (Modèle Métallique (3), méthode de Hückel (4)). Le taux de polarisation négatif de la phosphorescence du monocation indique que

l'émission est "polarisée" (*) non plus suivant l'axe OX de la molécule comme l'absorption, mais avec une composante suivant OY, ou même hors du plan de la molécule. Dans le cas des hydrocarbures aromatiques, on sait que la phosphorescence est "polarisée" à 90° du plan de la molécule, le moment de transition de l'absorption étant toujours dans le plan de la molécule (5).

L'absorption du dication dans le plexiglass reste faible et masquée par celle du monocation. Si l'on excite uniquement la forme monocationique qui par protonation donnera une molécule de dication, alors la phosphorescence du dication est surtout polarisée parallèlement à l'axe OX, par conséquent dans le plan de la molécule. Mais si l'on excite aussi directement le dication, le taux de polarisation positif alors qu'on l'attendait négatif comme celui du monocation et des hydrocarbures, indique que les états S^* et T font intervenir des orbitales de nature différente.

Etudions le dication des colorants de l'acridine. L'atome d'azote de type acridine est protoné en milieu acide et ne saurait donner de transitions $n\pi^*$. Parmi les atomes d'azote de type amine, l'un est aussi protoné ; quant à l'autre, les deux électrons de son doublet libre se conjuguent normalement avec les électrons du système π du reste de la molécule (6). Ainsi le dication, comme d'ailleurs le monocation, devrait théoriquement ne donner que des transitions $\pi\pi^*$, c'est-à-dire une phosphorescence polarisée négativement, avec moment de transition hors du plan de la molécule.

(*) Il s'agit là, bien entendu, d'un abus de langage couramment utilisé dans la littérature, indiquant en réalité la direction du moment de transition.

Dans les molécules de monocation et de dication la différence d'énergie ΔE entre les états S^* et T est de l'ordre de 2500 à 4500 cm^{-1}. Or la valeur de ΔE est en général plus grande dans le cas des états $\pi\pi^*$ des hydrocarbures. Un intervalle de 1000 à 10.000 cm^{-1} est prévu pour des états $n\pi^*$ par GOODMAN et SHULL (7) et confirmé par l'expérience. La valeur de ΔE, petite dans les molécules de colorants de l'acridine, ainsi que le taux de polarisation positif de la phosphorescence indiquent la présence d'états qui ne sont pas purement $\pi\pi^*$.

Des valeurs positives du taux de polarisation de la phosphorescence, analogues aux nôtres, ont été obtenues expérimentalement par LIM et CHAKRABARTI (8) dans une étude portant sur une série de dérivés de l'aniline. Ces auteurs admettent la rotation des groupes auxochromes $-NH_2$ ou $-N(CH_3)_2$ autour de la liaison C-N, donnant aux transitions un caractère mixte ou $\ell \rightarrow a_\pi$. Une rotation du groupe $-NH_2$ hors du plan du cycle a d'ailleurs été mise en évidence par BRAND et coll. (9) pour l'aniline dans l'état fondamental, rotation d'environ 46°.

Le terme $\ell \rightarrow a_\pi$ a été appliqué par KASHA (10) à des transitions de type transfert de charge intramoléculaire dans les amines aromatiques afin de les distinguer des transitions $n\pi^*$ et $\pi\pi^*$. L'intensité des transitions $\ell \rightarrow a_\pi$ dépend de l'angle de rotation entre l'orbitale du doublet libre du groupe amine et les orbitales $2p\pi$ du cycle aromatique. Un angle de 0° correspond à une délocalisation du doublet libre et les transitions sont alors mieux définies comme des transitions $\pi\pi^*$. Par contre un angle de 90° supprime toute conjugaison.

On a montré que le caractère $\ell \rightarrow a_\pi$ des transitions augmentait le couplage spin-orbite et augmentait donc l'intensité de la phosphorescence de l'aniline et de ses dérivés (8). Dans nos colorants, la forte intensité de la phosphorescence pourrait avoir la même

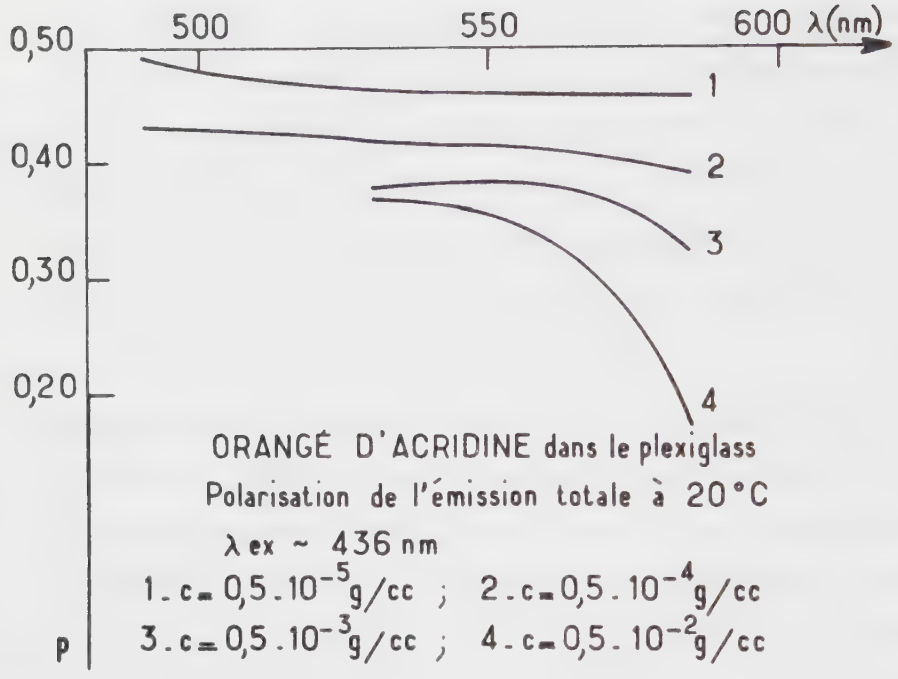


Figure IV-6

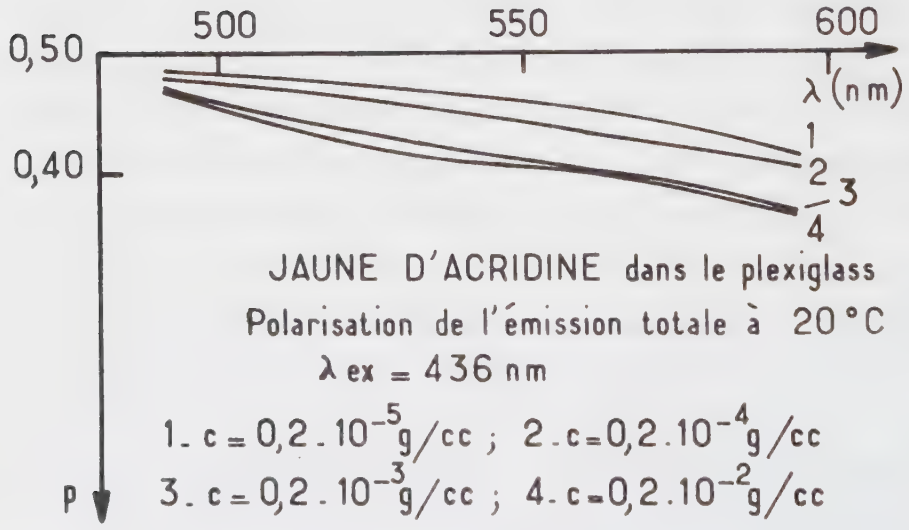


Figure IV-7

origine. Cependant il existe une différence notable entre l'aniline et les colorants : l'aniline est un composé neutre qui a été étudié en solvant non polaire tandis que nous étudions les colorants sous forme d'ions et en milieu nettement acide.

Pour les trois colorants, le taux de polarisation de la phosphorescence décroît quand la concentration augmente, les ordonnées du spectre de polarisation étant systématiquement diminuées.

L'émission de phosphorescence de l'associat est, rappelons-le, semblable à celle du monocation (avec un léger décalage vers les grandes longueurs d'onde). Nous commenterons donc l'influence de la concentration du côté des courtes longueurs d'onde de l'émission où le dication n'intervient pas ; seuls interviennent monocation et associat. Si le taux de polarisation prend des valeurs plus fortement négatives avec l'augmentation de la concentration, le décalage entre les spectres d'émission de l'associat et du monocation ne l'explique pas.

En somme, l'associat se caractérise par un spectre d'émission décalé par rapport à celui du monocation et un taux de polarisation plus fortement négatif. Le modèle excitonique ne l'explique pas alors qu'il décrit convenablement les spectres d'absorption.

Pour les trois colorants, le taux de polarisation de la phosphorescence augmente quand la longueur d'onde excitatrice diminue ce qui ne peut que favoriser l'absorption de l'associat. Or, d'après ce qui précède, la présence d'associats diminue au contraire le taux de polarisation. Nous concluons que le dication est responsable de la variation constatée.

Emission totale à la température ordinaire

Les spectres de polarisation reproduits sur les figures IV-6 et IV-7 ont été obtenus par PUJOLS (1) dans des conditions expérimentales

comparables à celles que nous avons utilisées. On y observe une dépolarisation le long du spectre quand on se déplace vers les grandes longueurs d'onde de l'émission ; on voit aussi que le taux de polarisation diminue quand la concentration augmente. La valeur maximale 0,5 est pratiquement obtenue pour l'échantillon le plus dilué, du côté des plus courtes longueurs d'onde de l'émission. La dépolarisation particulièrement importante du côté "rouge" que l'on observe pour l'orangé d'acridine est due à la forte proportion de phosphorescence (en accord avec l'étude spectrale déjà vue) proportion qui explique aussi l'importante dépolarisation observée avec les échantillons les plus concentrés.

De plus, PUJOLS a mesuré des taux de polarisation plus faibles lorsque la longueur d'onde excitatrice diminue tout en restant dans la première bande $S \rightarrow S^*$. Dans ces conditions, pour les colorants dont les bandes sont larges et peu structurées, on admet que le taux de polarisation d'une émission ne dépend pas de la longueur d'onde excitatrice s'il n'y a qu'un seul centre émetteur. La variation observée indique la coexistence de plusieurs centres ; nous avons donc la possibilité d'avoir à la fois le monocation et le dication.

Pour tous les colorants de l'acridine, nous avons vu qu'on pouvait attribuer au dication deux maximums dans le spectre d'absorption visible. Ils ont été mis nettement en évidence avec des solutions très acides. Il peut s'agir de la structure vibrationnelle d'une seule bande (par analogie avec le spectre d'absorption du monocation) ou de deux niveaux électroniques. Il serait évidemment souhaitable d'étudier le dication en l'absence d'autres formes. Mais comme nous l'avons dit à propos des spectres de phosphorescence il faudrait opérer avec des solutions très acides, trop acides pour pouvoir être rigidifiées à basse température dans nos

conditions expérimentales, et nous ne connaissons pas de solution solide à la température ordinaire suffisamment acide. Cependant nous avons pu nous rapprocher partiellement de ces conditions avec une solution de chloro-2-éthanol.

Lors du refroidissement d'une solution de proflavine dans le chloro-2-éthanol, nous avons vu (figure III-14 due à N. MALIQUE) que le spectre d'absorption indiquait la présence du dication à côté du monocation. Les mesures du taux de polarisation de la fluorescence sont groupées dans le tableau XVIII.

Tableau XVIII : Taux de polarisation de la fluorescence de la proflavine dans le chloro-2-éthanol à 77°K . $c = 10^{-5}$ g/cc

λ ex = 450 nm		λex = 420 nm	
forme II λem = 490 nm p = 0,40	forme III λ em = 520 nm p = 0,37	forme II λ em = 490 nm p = 0,20	forme III λem = 520 nm p = 0,14

Pour une excitation par 450 nm, longueur d'onde absorbée à la fois par le monocation et le dication, le taux de polarisation est élevé pour les maximums d'émission des deux formes ioniques en présence, indiquant que l'émission et l'absorption correspondent à la même transition électronique.

La longueur d'onde excitatrice 420 nm, qui pour le monocation appartient à la même bande d'absorption que la longueur d'onde 450 nm, ne doit introduire aucune dépolarisation de la

fluorescence. Pour une molécule de dication, la longueur d'onde excitatrice 420 nm appartient à sa bande d'absorption visible la plus "bleue" tandis que 450 nm doit exciter préférentiellement la molécule dans sa bande la plus "rouge". Les taux de polarisation de la fluorescence des deux formes ioniques excitées par 420 nm sont très faibles. Ils indiquent l'existence d'un moment de transition, orienté perpendiculairement à l'axe OX, qui ne peut être lié à la seule structure vibrationnelle. Ceci implique que les deux bandes d'absorption visible du dication sont dues à deux niveaux électroniques différents. On justifie ainsi l'absence de symétrie dans un miroir entre la fluorescence et l'absorption visible.

Fluorescence lente

L'étude des spectres de polarisation de la fluorescence lente est moins complète car cette émission, peu intense, est difficilement enregistrable. Ces spectres sont reportés sur les figures IV-8, IV-9 et IV-10.

On retrouve une forte dépolarisation vers les grandes longueurs d'onde du spectre d'émission, dépolarisation d'autant plus accentuée que la concentration est plus élevée. Comme dans les spectres d'émission totale cette diminution du taux de polarisation est due à la phosphorescence.

Du côté "bleu" on observe un palier plus ou moins net suivant les colorants. Pour l'orangé d'acridine on n'en distingue que l'amorce à cause de la forte proportion de phosphorescence.

Le taux de polarisation du palier, pour un même échantillon de jaune d'acridine de concentration égale à $0,2.10^{-3}$ g/cc,

décroît avec la longueur d'onde excitatrice (figure IV-10, courbes 1, 2, 3 et 4). On retrouve la présence de la bande d'absorption "bleue" du dication.

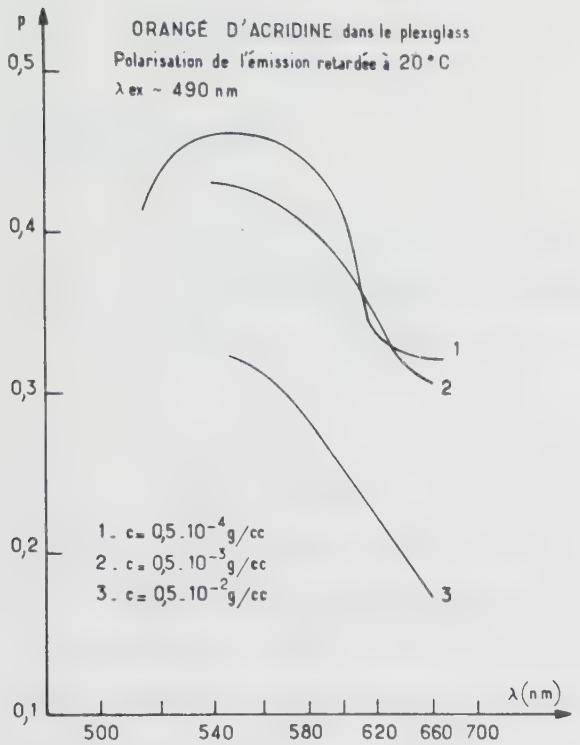


Figure IV-8

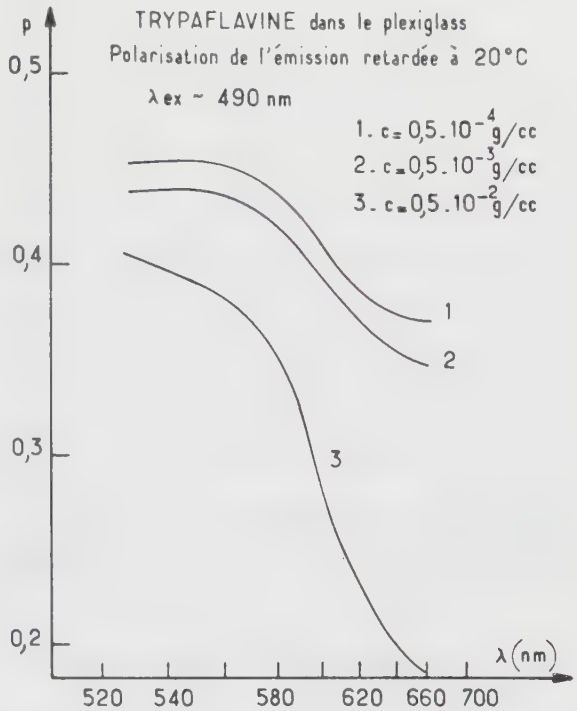


Figure IV-9

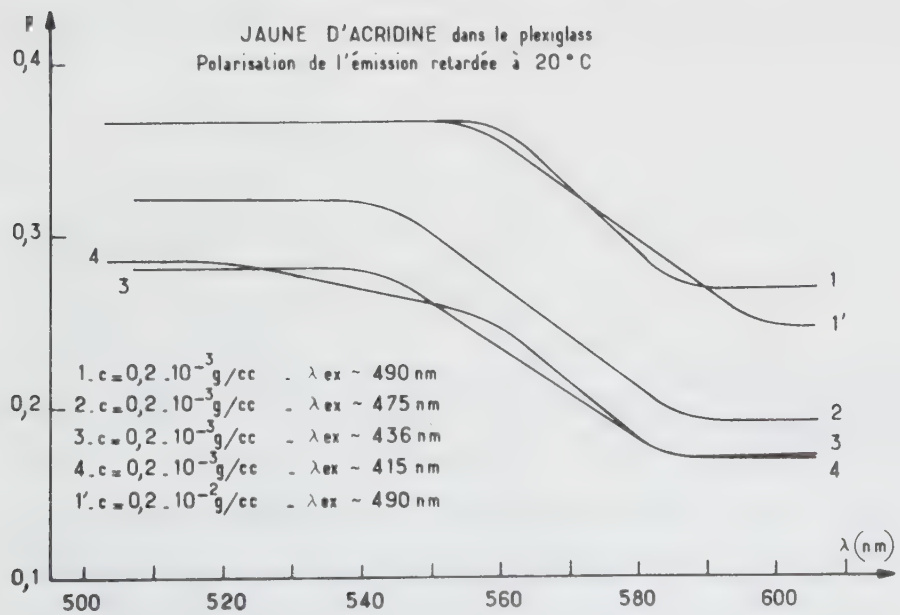


Figure IV-10

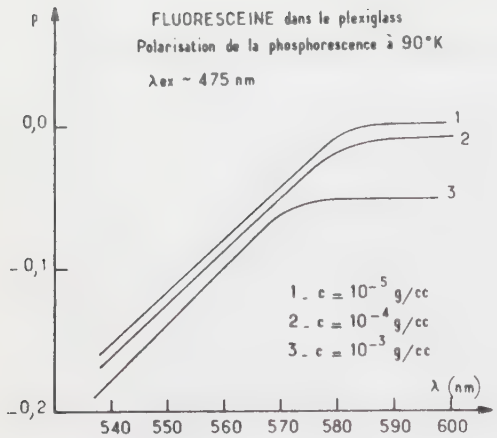
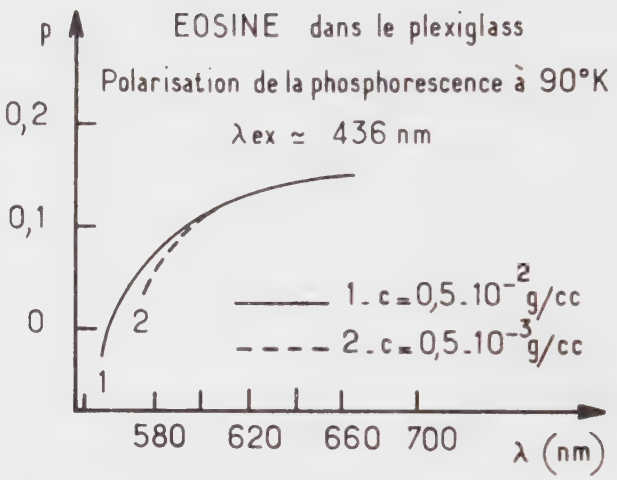


Figure IV-11

Figure IV-12



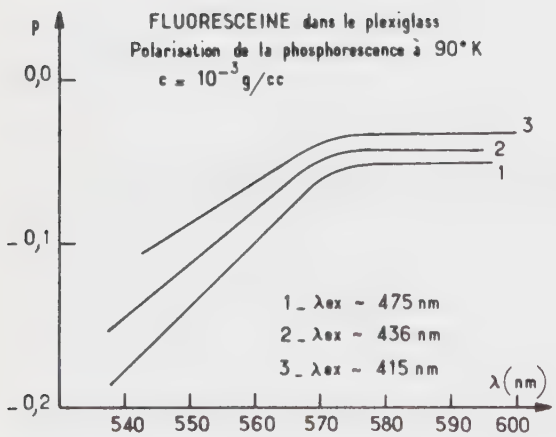


Figure IV-13

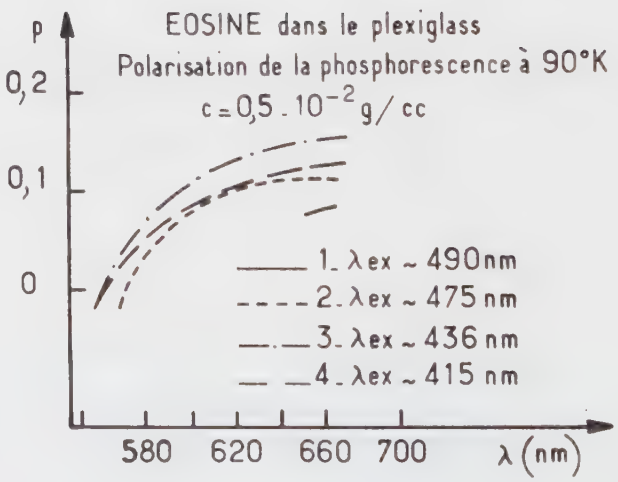


Figure IV-14

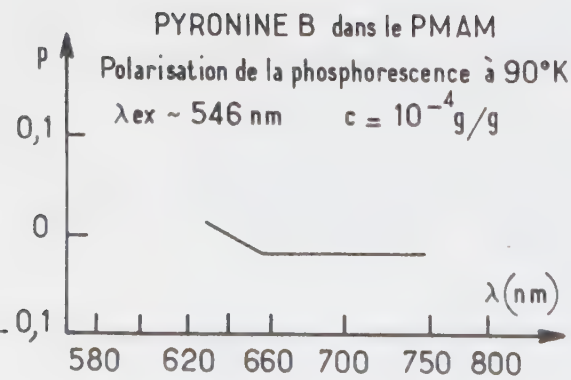


Figure IV-15

B - COLORANTS DU XANTHENE

Phosphorescence

Les spectres de polarisation de la phosphorescence dans le plexiglass de la fluorescéine et de l'éosine sont reportés respectivement sur les figures IV-11 et IV-13, IV-12 et IV-14.

Ces spectres ont la même allure que ceux des colorants de l'acridine commentés en A. Les taux de polarisation sont toujours négatifs (ou nuls) pour la fluorescéine et presque exclusivement positifs pour l'éosine. Mais dans les deux cas, la variation linéaire du spectre de polarisation correspond à l'émission du cation et le palier à celle de l'anion. L'émission du cation est polarisée négativement, celle de l'anion positivement, l'influence pondérée de chaque forme ionique intervenant dans chaque valeur mesurée du taux de polarisation ; la forme cationique est prépondérante dans le cas de la fluorescéine. Les deux bandes d'émission ont ainsi des moments de transition perpendiculaires comme pour les colorants de l'acridine, mais il s'agissait alors de l'émission d'un monocation et d'un dication.

Quant à la rhodamine B, comme nous l'avons déjà signalé, la sensibilité des plaques photographiques a limité notre étude aux plus courtes longueurs d'onde de la phosphorescence ; nous avons trouvé des taux de polarisation voisins de zéro. Les taux de polarisation mesurés sont également voisins de zéro pour la pyronine B et nous avons pu construire le spectre de polarisation (figure IV-15) ; quand la longueur d'onde d'émission augmente, le taux de polarisation accuse une faible diminution linéaire avant d'atteindre un palier. La partie linéaire positive est due à l'émission du dication tandis que le palier à peu près égal à zéro correspond

au monocation. Ainsi, lorsqu'on passe du monocation au dication, le taux de polarisation augmente, comme pour les colorants de l'acridine.

Etudions la structure des colorants du xanthène. On admet que dans l'atome d'oxygène simplement lié, qu'il soit de type furane ou de type phénol, l'orbitale de l'un des doublets libres se conjugue avec le système électronique π du cycle, l'orbitale de l'autre doublet libre étant orientée dans le plan moléculaire. Quant à l'atome d'oxygène doublement lié à un atome de carbone, comme c'est le cas des anions (cf. tableau XV), on n'envisage aucune conjugaison avec le cycle pour les électrons de ses doublets libres (6). Ainsi donc la fluorescéine et l'éosine peuvent donner lieu à la fois à des transitions $n\pi^*$ et $\pi\pi^*$. Il en est de même de la rhodamine et de la pyronine qui possèdent aussi un oxygène du type furane, la présence d'auxochromes azotés de type amine les rapprochant par ailleurs des colorants de l'acridine.

Une valeur positive pour le taux de polarisation de la phosphorescence des colorants du xanthène peut ainsi s'interpréter par des transitions $S \rightarrow S^*$ et $T \rightarrow S$ faisant intervenir des orbitales de nature différente, en accord avec la faible différence d'énergie ΔE entre les états S^* et T (de l'ordre de 2500 cm^{-1} pour la fluorescéine et de 3300 cm^{-1} pour l'éosine). L'éosine est le seul colorant pour lequel nous avons obtenu la phosphorescence d'une seule forme ionique en excitant par la longueur d'onde 490 nm (figure III-56, courbe 1) ; son taux de polarisation positif est encore voisin de 0,1 (courbe 1, figure IV-14), valeur très faible pour un état S^* de nature $\pi\pi^*$ et un état T de nature $n\pi^*$.

On voit sur les figures IV-11 et IV-12 que le taux de polarisation de la phosphorescence de la fluorescéine et de l'éosine diminue quand la concentration augmente comme pour les colorants de l'acridine. Cette diminution est surtout importante du côté "rouge" pour la fluorescéine ce qui confirme que l'association se fait par l'intermédiaire du

dianion, la formation d'associats entraînant la prédominance dans le moment de transition de l'émission d'une composante perpendiculaire à OX.

Comme pour les colorants de l'acridine, le taux de polarisation diminue quand la longueur d'onde excitatrice augmente (figures IV-13 et IV-14). La coexistence de diverses formes ioniques qui absorbent et dont on ignore si elles participent à l'émission de phosphorescence ne nous permet pas d'avancer une interprétation.

Emission totale à la température ordinaire

Sur les figures IV-16 et IV-17, nous avons reproduit les spectres de polarisation de la fluorescéine et de la rhodamine B en solution dans le plexiglass obtenus par PUJOLS (1). Quand on se déplace vers les grandes longueurs d'onde de l'émission, le taux de polarisation diminue, et cela d'autant plus sensiblement que la concentration augmente. On observe corrélativement une dépolarisation par concentration. La valeur limite 0,5 est pratiquement atteinte aux faibles concentrations et pour les courtes longueurs d'onde de l'émission, très voisines de la longueur d'onde excitatrice. Cette valeur 0,5 rigoureusement constante le long du spectre d'émission pour la plus faible concentration de fluorescéine indique que les moments de transition du cation et de l'anion sont tous deux parallèles à OX.

Fluorescence lente

Nous parlerons tout d'abord de la fluorescéine. Le spectre de polarisation de l'émission retardée à la température ambiante avec

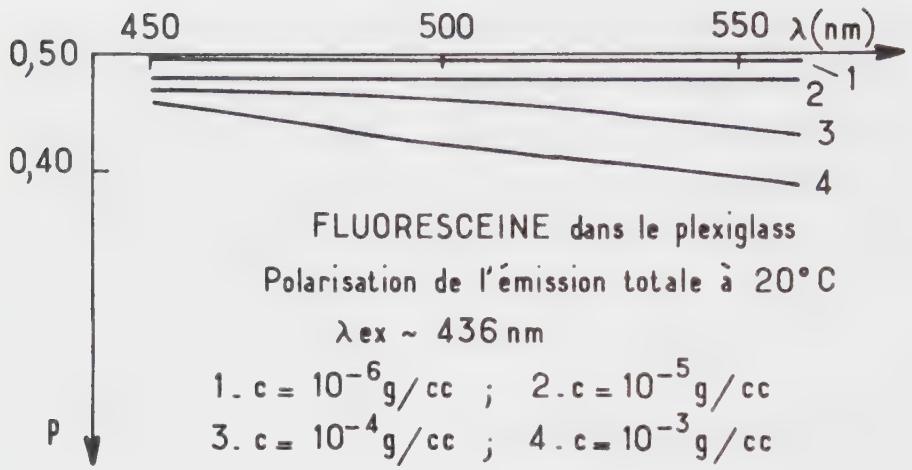


Figure IV-I6

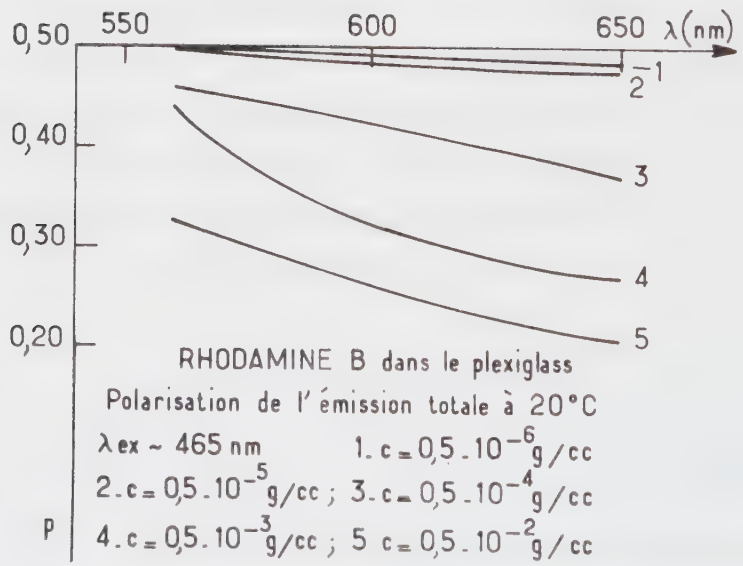


Figure IV-17

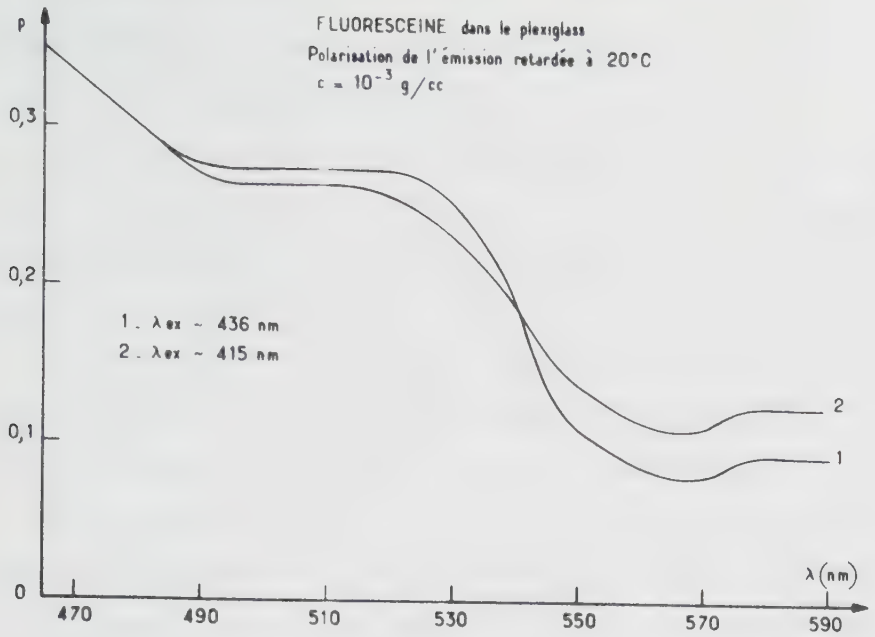


Figure IV-18

un échantillon de plexiglass de concentration 10^{-3} g/cc et pour les deux longueurs d'onde excitatrices 436 et 415 nm est reporté sur la figure IV-18.

On doit s'attendre à trouver dans ce spectre de polarisation une forte influence de la phosphorescence. On y remarque en effet une chute brusque du taux de polarisation du côté des grandes longueurs d'onde à partir de 530 nm, puis un palier vers 575 nm. L'ordonnée de ce palier, caractéristique de la phosphorescence, augmente quand la longueur d'onde excitatrice diminue. Ce résultat confirme les mesures précédentes de variation du taux de polarisation de la phosphorescence avec la longueur d'onde excitatrice. Au contraire, pour la fluorescence, on a toujours trouvé que le taux de polarisation augmentait avec la longueur d'onde excitatrice.

Du côté des courtes longueurs d'onde, c'est-à-dire dans la région de la seule fluorescence lente, le taux de polarisation diminue

tout d'abord linéairement, présente un palier, puis diminue à nouveau. Nous constatons qu'aux erreurs d'expérience près, la variation linéaire se produit dans la région d'émission du cation tandis que le palier se trouve dans la région de l'épaulement dû à l'anion.

Nous sommes amené à admettre, nous l'avons déjà dit, qu'à la température ordinaire à partir d'une certaine longueur d'onde naturellement mal définie la fluorescence lente et la phosphorescence interviennent dans nos échantillons de plexiglass pour fixer la valeur du taux de polarisation. On s'explique ainsi que le spectre de la figure IV-18 soit moins simple que celui de la figure IV-16 où la fluorescence est très largement prépondérante. On remarquera que, du côté des courtes longueurs d'onde de la figure IV-18, le taux de polarisation augmente avec la longueur d'onde excitatrice, comme pour la fluorescence.

Remarquons enfin que la valeur maximale du taux de polarisation de la fluorescence lente 0,334 est nettement inférieure à la valeur du taux de polarisation de la fluorescence 0,447 mesurée pour un échantillon de même concentration et une même longueur d'onde excitatrice 436 nm . Cette différence est souvent signalée dans la littérature (11).

Le spectre de polarisation de l'émission retardée à la température ambiante est beaucoup plus simple pour la rhodamine B

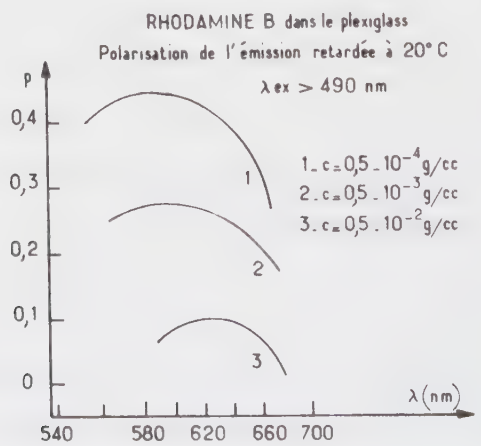


Figure IV-19

(figure IV-19) que pour la fluorescéine. En effet, la majeure partie de la phosphorescence de la rhodamine B est trop "rouge" pour être enregistrée par nos émulsions ; la fluorescence lente y est importante. De plus, nous avons vu dans l'étude spectrale qu'une seule forme ionique se manifeste dans la fluorescence lente dont le taux de polarisation décroît très rapidement quand la concentration augmente, indiquant la formation d'associats.

C - CONCLUSION

Les spectres de polarisation de la fluorescence étudiés avant nous au laboratoire avaient montré une grande similitude des formes monocationiques des colorants de l'acridine et du xanthène. La polarisation fondamentale 0,5 pour une excitation par la première bande $S \rightarrow S^*$ confirmait l'existence d'oscillateurs linéaires d'absorption et d'émission, parallèles à OX, les états singulets intervenant n'étant pas perturbés par des états triplets ou d'autres états singulets. Il est vrai que la perturbation de l'état singulet excité de plus basse énergie par des états singulets d'énergie beaucoup plus grande est peu probable.

Le spectre d'absorption du dication des colorants de l'acridine (et vraisemblablement de la rhodamine et de la pyronine) est constitué de deux bandes de moments de transition différents : la bande de plus grande longueur d'onde est "polarisée" suivant OX, le moment de transition de l'autre bande a une composante suivant OY ou OZ .

La polarisation de la phosphorescence du monocation de tous nos colorants montre que le moment de transition de cette émission a une composante perpendiculaire à OX . Bien que la proximité des états S^* et T et le faible taux de polarisation de la phosphorescence dans le cas des colorants de l'acridine ne soient pas en faveur du caractère purement $\pi\pi^*$ de ces états, on peut penser par analogie avec les hydrocarbures aromatiques que la composante perpendiculaire à OX est plutôt suivant OZ que suivant OY.

La diminution de la longueur d'onde excitatrice entraîne pour les colorants de l'acridine une diminution du taux de polarisation de la fluorescence excitée par la bande d'absorption "bleue" du dication polarisée suivant OZ (ou OY) ; corrélativement l'émission de phosphores-

cence est plus fortement polarisée parallèlement à l'absorption, c'est-à-dire à OZ (ou OY). Comme le taux de polarisation de la phosphorescence du monocation croît en même temps que l'on favorise l'excitation du dication dans sa bande d'absorption "bleue", il faut envisager pour leurs moments de transition une même composante principale suivant OZ. La lumière incidente n'est pas assez monochromatique pour que l'on puisse exciter sélectivement le dication par l'une ou l'autre de ses bandes d'absorption ; on peuple à la fois les deux niveaux électroniques qui émettent une luminescence assez dépolarisée. L'orientation, hors du plan de la molécule, du moment de transition de la bande d'absorption "bleue" du dication se comprend dans l'hypothèse du caractère $\ell \rightarrow a_{\pi}$ de cette transition, hypothèse qui rapproche le comportement des dications des colorants de l'acridine de celui des dérivés de l'aniline.

Rappelons que l'existence d'une bande $\ell \rightarrow a_{\pi}$ est liée à un angle entre le plan du cycle et celui du groupe amine qui est formé par rotation (ou pliure) de ce groupement. On peut se demander si l'angle ainsi formé est constant ou varie avec la température. En observant la variation de l'intensité des bandes d'absorption au cours du refroidissement de solutions neutres de dérivés de l'aniline, DUBROCA (12) a montré que le groupement amine se pliait ou tournait progressivement hors du plan moléculaire jusqu'à ce que le recouvrement des orbitales soit minimal. Si une telle évolution avec la température se comprend pour des molécules neutres dans un solvant non polaire, elle est plus difficilement compréhensible pour des ions dans un solvant tel que le plexiglass. En effet, la contraction du plexiglass est négligeable et ne peut intervenir pour plier ou tordre la molécule ; on pourrait plutôt penser à une interaction entre le colorant, ion fortement chargé, et le plexiglass. En général, les interactions intermoléculaires du type liaison hydrogène entraîne un déplacement bathochrome du spectre de fluorescence au cours du refroidissement (tandis que le déplacement hypsochrome est attribuable à l'affinement des bandes à basse température) et

une extinction de la fluorescence (13). Dans le plexiglass, on n'observe rien de semblable ; cependant, dans l'hypothèse de liaisons intermoléculaires, la rigidité du solvant peut empêcher la perturbation de ces liaisons au cours du refroidissement de la solution. On peut donc penser que l'abaissement de température ne permettra pas de mettre en évidence les bandes d'absorption des colorants de caractère $\ell \rightarrow a_\pi$ par des variations de leur intensité comme pour l'aniline (12). Une telle recherche nous est malheureusement impossible pour le dication, ainsi que nous l'avons dit, car il faudrait opérer à basse température avec des solutions très acides.

Quant au monocation, on a toujours observé une augmentation de l'intensité de la bande d'absorption visible au cours du refroidissement, augmentation pouvant atteindre 45 % (14) et parfois 100 % (15) ; mais l'existence de plusieurs formes, ioniques et moléculaire , dont les proportions respectives peuvent varier, est une gêne pour toute recherche tendant à relier l'augmentation d'intensité du spectre d'absorption à une torsion ou pliure de la molécule. Cependant, la diminution des taux de polarisation négatifs de la phosphorescence du monocation des colorants de l'acridine lorsque la concentration augmente, ainsi que le déplacement vers le "rouge" du spectre d'émission correspondant, constituent deux arguments en faveur d'une planéité plus grande pour l'associat que pour le monocation. Ainsi la molécule de monocation n'est pas plane et celle de dication est encore plus loin de la planéité.

On sait que les électrons des doublets libres de l'atome d'oxygène sont plus localisés que ceux d'un atome d'azote, rendant l'existence de bandes du type transfert de charge plus probable pour les colorants du xanthène que pour ceux de l'acridine. Toutefois on doit faire une exception pour la rhodamine B et la pyronine B qui, nous l'avons vu, sont à rapprocher des colorants de l'acridine. Malgré la coexistence possible dans les colorants du groupe du xanthène d'états $n\pi^*$

et d'états $\pi\pi^*$ on remarque la très grande similitude des deux groupes de colorants : même allure des spectres de polarisation de la phosphorescence, valeurs analogues du taux de polarisation et variations dans le même sens avec la concentration et avec la longueur d'onde excitatrice, enfin même ordre de grandeur de la différence d'énergie des états S^* et T . C'est pourquoi nous pensons qu'il faut envisager dans tous les cas l'existence de bandes $\ell \rightarrow a_\pi$.

Le regroupement des résultats des spectres d'émission et de polarisation permet quelques précisions sur la structure de l'associat :

- il s'agit dans tous les cas d'un dimère excitonique (16) (comme le montrent les spectres d'absorption)

- l'interaction se fait par les groupes auxochromes (la bande d'absorption polarisée suivant OX dans le cas du seul monocation est perturbée)

- pour les colorants de l'acridine, les axes OZ des deux molécules de monocation qui s'associent sont parallèles, tandis que les axes OX et OY font un certain angle ; en outre l'associat est plus plan que le monocation.

BIBLIOGRAPHIE DU CHAPITRE IV

1 - C. PUJOLS. - Thèse de Troisième Cycle, Bordeaux, 1960.

E. LAFFITTE et C. PUJOLS. - C.R. Acad. Sc., 252, 1961, 1008.

2 - V.A. PILIPOVITCH. - Opt. Spectry., 10, 1961, 104.

3 - E. LAFFITTE. - Thèse, Paris, 1954.
C.R. Acad. Sc., 236, 1953, 680.

4 - J.C. RAYEZ. - Thèse d'Etat, à paraître.

5 - F. DÖRR et H. GROPPER. - Ber. Phys. Chem., 67, 1963, 193.

T. AZUMI et S.P. McGLYNN. - J. Chem. Phys., 37, 1962, 2413.

V.G. KRISHNA et L. GOODMAN. - J. Chem. Phys., 37, 1962, 912.

R. HOCHSTRASSER et S. LOWER. - J. Chem. Phys., 40, 1964, 1041.

6 - B. et A. PULLMAN. - Quantum Biochemistry, 1963, p. 93.

7 - L. GOODMAN et H. J. SHULL. - J. Chem. Phys., 22, 1960, 281.
J. Mol. Spectry, 6, 1961, 109.

8 - E.C. LIM et S.K. CHAKRABARTI. - J. Chem. Phys., 47, 1967, 4726.

9 - J.C. D. BRAND, D.R. WILLIAMS et T.J. COOK. - J. Mol. Spectry, 20, 1966, 359.

10 - M. KASHA. - Light and Life - Eds : W.D. McElroy et B. Glass, 1961 p. 31.

11 - S.J. WAWILOW et W.L. LEWSCHIN. - Z. Physik., 35, 1926, 920.

A. JABLONSKI. - Acta Phys. Pol., 3, 1934, 421 et 4, 1935, 311.

P. PRINGSHEIM et S.J. WAWILOW. - Z. Physik., 37, 1926, 705.

12 - C. DUBROCA. - Chem. Phys. Letters, 15, 1972, 207.

13 - R.S. DAVIDSON et M.J. SANTHANAN. - J. Chem. Soc., B 1971, 1151.

14 - N. MALIQUE. - Thèse de Troisième Cycle, Bordeaux, 1970.

N. MALIQUE et G. NOUCHI. - C.R. Acad. Sc., 270, 1970, 1559.

15 - M. EWALD. - Thèse de Troisième Cycle, Orsay, 1969.

16 - M. KASHA, H.R. RAWLS et M. ASHRAF El-BAYOUMI. - VIIIème Congrès Européen de Spectroscopie Moléculaire, Copenhague, 1965.

CHAPITRE V

EXCITATION PAR LA BANDE S→T

Les transitions $S \leftrightarrow T$ sont interdites en principe puisqu'elles font intervenir des états de multiplicités différentes. Mais le couplage spin-orbite leur donne un caractère faiblement permis et depuis longtemps on a réussi à observer des bandes d'absorption $S \rightarrow T$ (1) avec des liquides ou même des gaz en augmentant considérablement la longueur traversée. Quant à l'émission $T \rightarrow S$, nous avons vu que l'emploi du plexiglass permet de l'obtenir dès la température ordinaire.

Avec une excitation par la bande $S \rightarrow T$, l'état T est atteint directement. Nous nous sommes proposé de tenter cette excitation directe et de comparer l'émission, du point de vue répartition spectrale et polarisation, à l'émission de l'état T excité de la manière habituelle par la première bande $S \rightarrow S^*$.

Nous avons tout d'abord utilisé un laser continu. L'intensité de la source laser devait permettre en effet d'exciter un nombre relativement important de molécules et l'on pouvait espérer obtenir ainsi une émission décelable. D'autre part, la très grande monochromaticité d'un laser émettant une fréquence de la bande d'absorption $S \rightarrow T$ évitait tout danger d'exciter simultanément les états S^* et T, malgré leurs énergies très voisines dans le cas des colorants.

Nous disposions d'un laser hélium-néon dont la longueur d'onde d'émission (632,8 nm) tombait parfaitement dans la bande d'absorption S → T de la rhodamine B et de la pyronine B . Les résultats obtenus, très typiques comme nous le verrons, sont caractéristiques d'une excitation S → T et non liés à l'utilisation d'une source laser. Pour des molécules autres que la rhodamine B et la pyronine B nous ne disposions pas d'un laser émettant une fréquence de la bande S → T , mais nous avons pu obtenir les mêmes résultats caractéristiques avec une raie du mercure convenablement filtrée dans le rayonnement de la lampe SP 500. Bien entendu, l'intensité de l'émission était très faible, les temps de pose très élevés et les clichés plus difficiles à examiner. Cependant nous avons pu constater qu'il n'y avait pas de différence entre "l'excitation laser" et l'excitation par une source ordinaire pourvu que l'on réussisse à peupler l'état T directement.

RHODAMINE B et PYRONINE B

Comme nous l'avons déjà dit dans le chapitre II, l'excitation laser s'adapte très facilement à notre montage ; il suffit d'enlever la source habituelle et les condenseurs.

Nous devons en outre supprimer le phosphoroscope. En effet, en conservant le phosphoroscope il est impossible d'enregistrer l'émission quelle que soit la durée des temps de pose. La durée de vie des molécules à l'état T devient donc dans ces conditions inférieure à la milliseconde. La grande monochromaticité du laser rend d'ailleurs le phosphoroscope inutile puisqu'on peuple directement

l'état T sans risque d'atteindre l'état S^* directement, donc sans risque de fluorescence dans l'émission.

REPARTITION SPECTRALE DE L'EMISSION COMPARAISON AVEC L'EMISSION RETARDEE POUR UNE EXCITATION $S \rightarrow S^*$

Rhodamine B

La figure V-1 se rapporte à l'excitation $S \rightarrow T$ sans phosphoroscope, la figure V-2 à l'excitation $S \rightarrow S^*$ avec phosphoroscope. Les courbes 1 ont été enregistrées à basse température, les courbes 2 et 3 à la température ambiante. Il s'agit d'un échantillon de rhodamine B dans le plexiglass à la concentration $0,5.10^{-3}$ g/cc.

Sur la courbe 1 de la figure V-2 on observe un maximum d'émission à la longueur d'onde 710 nm et un épaulement à 770 nm ; sur la courbe 1 de la figure V-1 on trouve en plus une bande d'émission vers 650 nm. Les deux bandes d'émission les plus "rouges", communes aux deux excitations ne peuvent être attribuées qu'à l'émission $T \rightarrow S$ du monocation en accord avec les résultats du chapitre IV. Nous attribuons la bande d'émission vers 650 nm à la phosphorescence du dication dont l'état triplet a une durée de vie trop courte pour passer à travers le phosphoroscope.

La courbe 2, que l'on voit seulement sur la figure V-1, est l'enregistrement avec un film Kodak IRHS de l'émission sans phosphoroscope pour l'excitation $S \rightarrow T$ à la température ambiante. Elle est comparable à l'émission que nous avons obtenue à la même température pour les divers colorants avec l'excitation $S \rightarrow S^*$; on y retrouve en particulier la proportion importante de phosphorescence

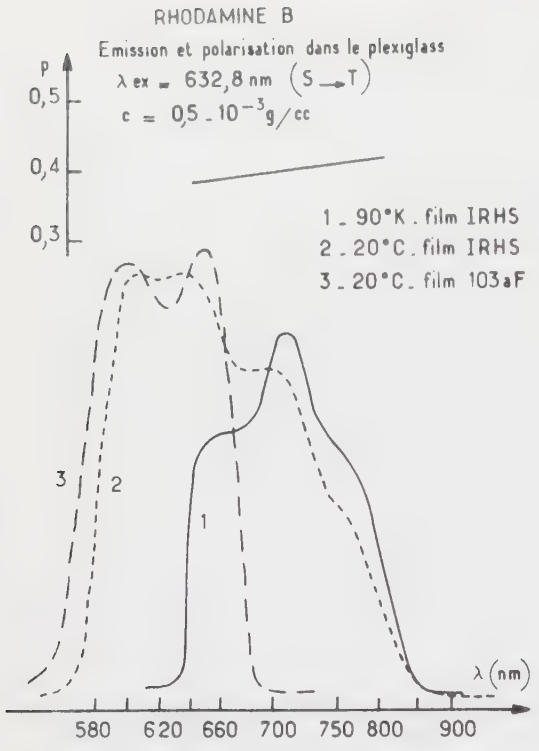


Figure V-1

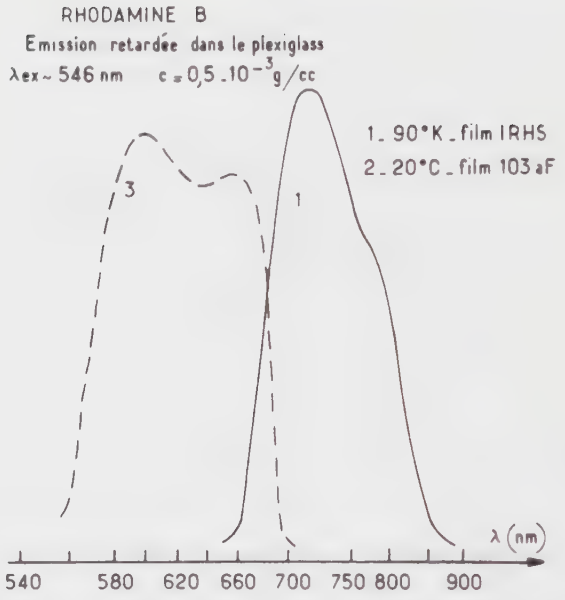


Figure V-2

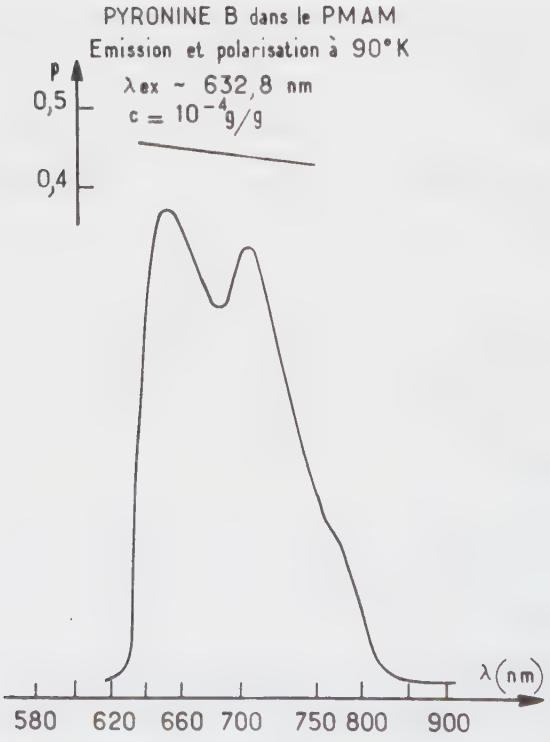


Figure V-3

dès la température ordinaire, caractéristique des solutions solides dans le plexiglass.

Les courbes 3 des figures V-1 et V-2 ayant été enregistrées avec des plans-films Kodak 103 aF très rapides mais de sensibilité nulle vers le rouge, on y décèle peu de phosphorescence. Leur ressemblance montre que l'on obtient la fluorescence lente aussi bien avec l'excitation $S \rightarrow T$ qu'avec l'excitation $S \rightarrow S^*$; dans le premier cas, c'est une émission de longueur d'onde plus courte que l'excitation.

Pyronine B

La pyronine B, que nous avons étudiée en solution dans le PMAM, a un comportement très voisin de celui de la rhodamine B . On retrouve lors de l'excitation $S \rightarrow T$ (figure V-3) les trois maximums de phosphorescence ; leur intensité relative reste la même pour des concentrations variant de 10^{-6} à 10^{-4} g/g confirmant qu'il s'agit de l'émission de formes ioniques (monocation et dication) sans associat ; à l'inverse de la rhodamine B , l'émission du dication est plus intense que celle du monocation, aussi on peut l'enregistrer avec une excitation $S \rightarrow S^*$ et un phosphoroscope, sa durée de vie étant pourtant à la limite de notre détection possible.

POLARISATION DE L'EMISSION

Le taux de polarisation de la phosphorescence est voisin de 0,4 pour la rhodamine B (figure V-1) et de 0,5 pour la pyronine B (figure V-3). Nous sommes loin des valeurs proches de zéro que l'on trouvait avec l'excitation $S \rightarrow S^*$ (chapitre IV) et nous nous rapprochons

de la valeur limite 0,5 que l'on mesure pour la polarisation fondamentale de la fluorescence excitée par la première bande $S \rightarrow S^*$.
Ce résultat est logique puisque, avec l'excitation $S \rightarrow T$, la phosphorescence devient une émission directe, les oscillateurs d'absorption et d'émission étant identiques.

Quant à la fluorescence lente (émission $S^* \rightarrow S$ retardée), son taux de polarisation, avec une excitation $S \rightarrow T$, est comparable à celui que l'on a mesuré avec une excitation $S \rightarrow S^*$ (chapitre IV) : nettement positif, mais cependant inférieur à celui de la fluorescence (émission $S^* \rightarrow S$ directe).

FLUORESCEINE

Pour ce colorant, nous ne disposions pas d'un laser émettant une fréquence de la bande $S \rightarrow T$. Nous avons réalisé l'excitation $S \rightarrow T$ avec la raie du mercure 546 nm isolée dans le rayonnement de la lampe SP 500, la raie 425 nm donnant l'excitation $S \rightarrow S^*$.

Nous avons tout d'abord vérifié qu'en solution aqueuse les émissions sont comparables avec les deux excitations ; il s'agit de l'émission de l'anion.

En milieu plus acide, chloro-2-éthanol ou PMAM, nous obtenons aussi la phosphorescence de l'anion en excitant par 546 nm.

Le taux de polarisation de la phosphorescence en solution solide pour l'excitation $S \rightarrow T$ est proche de 0,5 (0,475) confirmant,

comme pour la rhodamine B ou la pyronie B, que dans ce cas la phosphorescence est une émission directe.

Il nous a été impossible également avec la fluorescéine d'enregistrer la phosphorescence pour l'excitation $S \rightarrow T$ en conservant le phosphoroscope. La nécessité de supprimer le phosphoroscope quand on passe de l'excitation $S \rightarrow S^*$ à l'excitation $S \rightarrow T$ indique une diminution de la durée de vie.

Ainsi, quel que soit le mode d'excitation $S \rightarrow T$, laser continu ou raie d'une source ordinaire, on obtient en peuplant l'état T directement les mêmes spectres de phosphorescence ou de fluorescence lente qu'en amenant les molécules à l'état T par l'intermédiaire de l'état S^*. Mais la durée de vie de ces émissions devient plus courte.

La phosphorescence, pour une excitation $S \rightarrow T$, devient une émission directe et l'on mesure en solution solide un taux de polarisation proche de 0,5, c'est-à-dire de la polarisation fondamentale de la fluorescence excitée par la première bande $S \rightarrow S^*$.

BIBLIOGRAPHIE DU CHAPITRE V

1 - G. W. KING et E. H. PINNINGTON. - J. Mol. Spectry., 15, 1965, 394.

D. F. EVANS. - J. Chem. Soc., 1957, 1351.

J. NAG. CHANDHURI, L. STOESSELL et S. P. Mc. GLYNN. - J. Chem. Phys., 38, 1963, 2027.

S. P. Mc. GLYNN, T. AZUMI et M. KASHA. - J. Chem. Phys., 40, 1964, 507.

R. H. CLARKE et R. M. HOCHSTRASSER. - J. Chem. Phys., 46, 1967, 4532.

RESUME

Nous proposant d'étudier la polarisation des émissions retardées des colorants de l'acridine et du xanthène, nous avons été amené à enregistrer les spectres d'absorption et d'émission et à les interpréter à l'aide des différentes formes ioniques ou moléculaire et d'associats.

Les colorants de l'acridine se présentent en général sous quatre formes : forme neutre, monocation, dication et trication (tableau XI, p. 87) ; la trypaflavine ne peut exister sous la forme neutre pour des raisons de structure.

L'absorption des différentes formes avait déjà été identifiée et nous avons retrouvé les bandes signalées par d'autres auteurs. Pour les quatre formes nous avons observé une émission de fluorescence et de phosphorescence, identifiant la fluorescence du dication et du trication et la phosphorescence de la forme neutre, du dication et du trication.

En faisant varier la concentration et surtout l'acidité des solutions, nous avons décelé un associat formé par l'agrégation de deux monocations et dont les émissions se situent dans la même région spectrale que celles du monocation.

La rhodamine B, du groupe du xanthène, existe sous les mêmes formes (tableau XIII, p. 95) faisant ainsi la liaison avec les colorants de l'acridine. Nous avons identifié la fluorescence du dication et du trication, la phosphorescence du monocation et du dication, et nous avons décelé la formation d'un associat.

Quant à la fluorescéine et à l'éosine, quatre formes se manifestent en absorption (tableau XV, p. 106) et deux seulement en émission : le cation et le dianion. Nous décelons l'émission d'un associat dû au groupement de deux dianions.

En solution solide dans le plexiglass ou le méthacrylate de méthyle polymérisé, deux formes seulement et un associat se manifestent aussi bien en absorption qu'en émission : monocation et dication pour les dérivés de l'acridine et la rhodamine B, monocation et dianion pour la fluorescéine et l'éosine. Il faut donc attribuer à ces deux formes et à l'associat les taux de polarisation mesurés en solution solide.

L'analogie avec les hydrocarbures suggère pour la phosphorescence un moment de transition hors du plan de la molécule. Lorsqu'on excite par la première bande $S \rightarrow S^*$ dont le moment de transition est parallèle à OX, grand axe de la molécule, on attend un taux de polarisation négatif (ou très faiblement positif). C'est bien ce que l'on trouve dans la région spectrale correspondant à la phosphorescence du monocation, c'est-à-dire du côté "bleu". Du côté "rouge" du spectre de phosphorescence, attribué au dication ou au dianion selon le colorant, nous expliquons le taux de polarisation positif par le caractère $\ell \rightarrow a_\pi$ de la transition.

Excitée par la bande $S \rightarrow T$, la phosphorescence devient une émission directe. Chaque fois que cette excitation a été possible, nous avons trouvé 0,5 pour le taux de polarisation, valeur de la polarisation fondamentale de la fluorescence pour une excitation par la transition inverse.

Vu et approuvé,

Bordeaux, le décembre 1972

Le Président de l'Université